

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Mathias Gress
Bereich Endokrinologie & Diabetologie
Leiter: Prof. Dr. med. Dr. phil. Peter Herbert Kann

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg



Klinische und molekulargenetische Charakterisierung von Phäochromozytomen und Paragangliomen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

Dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt
von

Simona Raluca Galan
aus Bukarest

Marburg 2012

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am 28.06.2012

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Rothmund

Referent: Prof. Dr. med. Dr. phil. Peter Herbert Kann

Korreferent: PD Dr. med. Jens Waldmann

für meine Eltern

Inhaltverzeichnis

1	Einleitung	4
1.1	Definition	4
1.2	Geschichte und Epidemiologie des Phäochromozytoms	4
1.3	Klinik des Phäochromozytoms	5
1.4	Diagnostik des Phäochromozytoms	7
1.4.1	Biochemische Diagnostik	7
1.4.2	Bildgebende Diagnostik	9
1.5	Therapie des Phäochromozytoms	11
1.6	Nachsorge	14
1.7	Genetische Grundlagen	16
1.7.1	Multiple Endokrine Neoplasie Typ 2 (MEN 2)	16
1.7.2	Von Hippel-Lindau-Syndrom (VHL)	20
1.7.3	Neurofibromatose Typ 1 (NF1)	23
1.7.4	Familiäres Paragangliom (familiäres PGL)	25
1.7.5	Andere neue Entdeckungen	29
1.8	Fragestellung der Studie	30
2	Patientengut und Methoden	31
2.1	Patientengut	31
2.2	Methoden	33
2.2.1	DNA-Extraktion aus EDTA-Blut	33
2.2.2	Polymerasekettenreaktion (PCR)	34
2.2.3	Agarose-Gelelektrophorese	35
2.2.4	Single-Strand-Conformation-Polymorphism Analyse (SSCP)	36
2.2.5	Denaturing High-Performance Liquid Chromatography Analyse (DHPLC)	38
2.2.6	Sequenzierung	41
2.2.7	Multiplex-Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)	42
2.2.8	Erhebung der klinischen Daten	42
3	Ergebnisse	43
3.1	Patientenfallbeschreibungen	43
3.2	Tabellarische Darstellung der Patienten	123
4	Diskussion	126
5	Zusammenfassung / Abstract	145
6	Verzeichnis der Abkürzungen	148
7	Anhang	150
8	Literaturverzeichnis	159
	Lebenslauf	177
	Verzeichnis der akademischen Lehrer	179
	Danksagung	180
	Ehrenwörtliche Erklärung	181

1 Einleitung

1.1 Definition

Das Phäochromozytom ist ein Katecholamin-produzierender Tumor, der von den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarkes ausgeht. Phäochromozytome, die den extraadrenalen chromaffinen Zellen entstammen, werden als Paragangliome bezeichnet. In sehr seltenen Fällen wurden auch Phäochromozytome akzessorischer Nebennieren beschrieben [Afuwape *et al.* 2009, Katai *et al.* 1998, Soffer 1948].

Die unterschiedlichen Lokalisationen, aber auch die biochemische und klinische Heterogenität des Phäochromozytoms erklären sich embryologisch. Chromaffine Zellen kommen bei Feten in vielen Organen vor. Nach der Geburt degenerieren die meisten Zellen und bleiben lediglich noch im Nebennierenmark und in den sympathischen Ganglien erhalten.

1.2 Geschichte und Epidemiologie des Phäochromozytoms

Der Begriff „Phäochromozytom“ ist griechischer Herkunft: „Phaios“ deutet auf „dunkel“ und „cytoma“ auf „Tumor“ hin. „Chroma“ bzw. „chromo“ könnte sich auf „Farbe“ beziehen, aber auch eine Referenz an „Chrom“ sein, da bei der Präparat-Herstellung in der Vergangenheit eine Chromat-haltige Fixationslösung verwendet wurde. Die chemische Reaktion färbte ausschließlich die Tumorzellen bräunlich an, was 1912 vom Berliner Pathologen Ludwig Pick (1868 – 1944) als Chromatbraun, oder „phäo chrom“ bezeichnet wurde. Er verwendete somit als erster den Begriff „Phäochromozytom“ in seiner Arbeit „Das Ganglioma embryonale sympathicum – eine typische bösartige Geschwulstform des sympathischen Nervensystems“ [Pick 1912].

Die erste Beschreibung eines Phäochromozytoms geht allerdings auf Felix Fränkel zurück, der 1866 den Fall einer 18-jährigen Freiburger Patientin wiedergab, die innerhalb von zehn Tagen in der Universitätsklinik Freiburg starb. Bei ihr wurden bei der Autopsie beidseitige Nebennierentumoren, aber keine Metastasen gefunden, pathologisch wurde damals „Sarkom“ und „Angiosarkom“ der beidseitigen Nebennieren beschrieben [Fränkel 1866]. 120 Jahre später ließen das junge Alter von 18 Jahren und der beidseitige Nebennierenbefall der Patientin Professor Dr. Dr. Hartmut Neumann, Leiter der Sektion

Präventive Medizin der Abteilung Innere Medizin IV des Universitätsklinikums Freiburg, die These aufstellen, dass bei dieser Patientin eine Erbkrankheit vorgelegen haben könnte. Molekulargenetische Blutuntersuchungen ergaben bei Nachkommen von zwei Geschwistern der seinerzeitigen Patientin dieselben Mutationen im so genannten *RET*-Protoonkogen, vereinbar mit einer MEN 2A-Krankheit [Neumann *et al.* 2007]. Die eingehende Prüfung der Fränkel'schen Tumorbeschreibungen durch die Pathologen Alexander Vortmeyer von den National Institutes of Health, Bethesda, USA, und Professor Dr. Martin Werner vom Institut für Pathologie in Freiburg, zeigten, dass Fränkel die richtige Krankheitsbeschreibung eines Phäochromozytoms lieferte, wenngleich er nach heutiger Nomenklatur einen Begriff gebrachte, der heute anders belegt ist und irreführend wäre.

Exakte Daten zur Inzidenz und Prävalenz des Phäochromozytoms und Paraganglioms liegen nicht vor, hierzu finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Bei Patienten mit einer diastolischen Hypertonie beträgt die Prävalenz 0,1-0,4 %. 10% aller Inzidentalome der Nebenniere sind Phäochromozytome. Die geschätzte Inzidenz liegt bei 1-2 Fällen pro 100000 Einwohner und Jahr. Das Phäochromozytom kann in jedem Lebensalter auftreten, ein Häufigkeitsspiegel scheint allerdings zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr zu bestehen. Ein Phäochromozytom im jüngeren Alter ist auf ein familiär bedingtes Syndrom verdächtig. Eine Geschlechtspräferenz besteht nicht. Die bekannte «Zehner-Regel», wonach Phäochromozytome in 10% extraadrenal, in 10% beidseitig, in 10% maligne, in 10% familiär und in 10% bei Kindern vorkommen, gilt laut aktueller Literaturlage zumindest nicht mehr für die Familiarität. Etwa 85-90% aller Phäochromozytome zeigen eine intraadrenale Lage, der Rest liegt extraadrenal. 20-25% der Phäochromozytome treten bilateral auf. Das Risiko einer Malignität des Phäochromozytoms liegt bei 10-15% bis maximal 25%, bezogen auf extraadrenale Tumoren bei 30-40%, während die 5-Jahre-Überlebensrate der malignen Tumoren bei > 50% liegt [Goldstein *et al.* 1999, Edstrom *et al.* 2003, Gimenez-Roqueplo *et al.* 2003]. Etwa drei Viertel aller Tumoren sind sporadisch, ein Viertel familiärer Genese [Neumann *et al.* 2002].

1.3 Klinik des Phäochromozytoms

Das Leitsymptom des Phäochromozytoms ist meistens die schwere, oft therapierefraktäre Hypertonie als Ausdruck der Katecholamin-Mehrsekretion. In etwa der Hälfte der Fälle

handelt es sich dabei um eine Dauerhypertonie, eine intermittierende Hypertonie findet sich bei den restlichen 40 bis 50% der Fälle [Goldstein *et al.* 1999, Januszewicz *et al.* 1985, Noshiro *et al.* 2000, Reisch *et al.* 2006]. Es ist noch nicht bekannt, warum die Katecholamine bei einigen Patienten intermittierend freigesetzt werden. Die hypertensiven Krisen könnten jederzeit, von mehrmals täglich bis nur monatlich, auftreten. In 80% der Fälle halten sie weniger als eine Stunde an, dann klingen die Symptome allmählich ab und führen zur Erschöpfung der Patienten [Manger *et al.* 2004]. In ca. 5 bis 15% der Fälle werden Verläufe ohne eine Hypertonie beobachtet. In diesen Fällen kann jedoch eine Herzinsuffizienz infolge einer Katecholamin-induzierten Kardiomyopathie entstehen, und es finden sich meistens weitere Stoffwechselstörungen, vor allem eine Hyperglykämie oder Hyperlipidämie [Gujjy *et al.* 2010, Kassim *et al.* 2008].

Typisch ist bei Phäochromozytom auch die Beschwerde-Trias von Kopfschmerzen, Schwitzen und Tachykardien. Die Kopfschmerzen könnten unterschiedlich von Charakter, Intensität und Dauer sein und treten bei bis zu 90% der symptomatischen Patienten auf, während das generalisierte Schwitzen in 60 bis 70% der Fälle vorkommt [Manger *et al.* 2002]. Nicht alle Patienten mit Phäochromozytom weisen allerdings alle drei klassischen Symptome auf, wie es z.B. in einer retrospektiven Studie vom Baguet *et al.* berichtet wurde [Baguet *et al.* 2004]. Jedes einzelne Symptom der Trias wurde bei ca. der Hälfte der Patienten angegeben, während lediglich 24% der Subjekte alle 3 klassischen Symptome aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von anderen Studien berichtet [Goldstein *et al.* 1999, Noshiro *et al.* 2000].

Die wesentlichen Begleitsymptome des Phäochromozytoms sind in Tabelle 1.1 genannt. Sie sind durch die Katecholamin-Mehrsekretion und die entsprechenden Stoffwechselstörungen zu erklären. Weitere seltene Symptome, wie z.B. Polyurie, Polydipsie, Verschwommensehen, orthostatische Hypotension, Obstipation, Leukozytose, psychiatrische Symptome, dilatative Kardiomyopathie sowie Erythrozytose infolge einer Erythropoietin-Überproduktion könnten gelegentlich bei Phäochromozytom vorkommen [Manger *et al.* 2004, Manger *et al.* 2002].

Prinzipiell ähneln bei malignen Phäochromozytomen die klinischen Zeichen denen des benignen Tumors. Sie sind auch hier die Folge der erhöhten Hormonsekretion. Histologische Untersuchungen des Tumors erlauben keine sichere Diagnose eines malignen Geschehens. Nur der Nachweis von Metastasen ist ein zuverlässiges Kriterium. Alle anderen Tumoren sind bis zum Beweis des Gegenteils zunächst als benigne zu

bezeichnen. Der häufigste Metastasierungsort ist das Skelett, zusätzlich metastasiert das Phäochromozytom in Leber und Lymphknoten, sehr selten auch in ZNS, Pleura und Niere. In der Literatur wurden bestimmte Prädiktoren der Malignität, wie z.B. Tumorgewicht von mehr als 80 g, erhöhte Dopamin-Konzentration im Tumor [John *et al.* 1999], Tumorgroße von mehr als 5 cm [Goldstein *et al.* 1999], Vorliegen von konfluierender Tumornekrose, extraadrenale Manifestation oder jüngeres Alter [Lehnert 2004] diskutiert.

Tabelle 1.1: Wichtigste Begleitsymptome beim Phäochromozytom [Lenders *et al.* 2005]

Symptom	Häufigkeit
Hypertonie	95-100%
Kopfschmerzen	60-90%
Palpitationen	50-70%
Schwitzen	55-75%
Blässe	40-45%
Übelkeit	20-40%
Gewichtsverlust	20-40%
Müdigkeit	20-40%
Hyperglykämie	20-40%

1.4 Diagnostik des Phäochromozytoms

1.4.1 Biochemische Diagnostik

In vielen Kliniken wird die Bestimmung der Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin) sowie ihrer Metaboliten (Metanephrin und Normetanephrin) im 24-Stunden-Sammelurin als Screeningverfahren eingesetzt. Diese Untersuchung sollte nach Möglichkeit zweimal durchgeführt werden. Als eindeutig pathologisches Ergebnis gilt eine mindestens doppelte Erhöhung der Katecholamine oder ihrer Metaboliten im 24-Stunden-Sammelurin über dem oberen Referenzwert [Lenders *et al.* 2002, Kudva *et al.* 2003].

Nach neueren Studien wird allerdings die Bestimmung der freien Metanephrine im Plasma als die sensitivste Laboranalytik zur Erkennung eines Phäochromozytoms empfohlen. In einer Studie der Mayo Klinik in Rochester USA [Sawka *et al.* 2003] schien die Sensitivität der Plasma-Metanephrine-Bestimmung bei 97% im Vergleich zu einer Sensitivität der Katecholamine- und Metanephrine-Ausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin von 90% zu liegen. Im Gegensatz dazu lag die Spezifizität der Plasma-Metanephrine-Bestimmung lediglich bei 85% im Vergleich zu einer Spezifizität der Katecholamine- und

Metanephrine-Ausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin von 98%. Die Spezifität der Plasma-Metanephrine-Bestimmung bei Patienten über 60 Jahre alt betrug sogar 77%. Zwei weiteren Referenzstudien [Lenders *et al.* 2002, Manger *et al.* 2006] erbrachten ähnliche Ergebnisse (Tabelle 1.2). Zusammengefasst bleibt die Einführung der Bestimmung der Metanephrine im Plasma als Methode der Wahl noch umstritten.

Tabelle 1.2: Sensitivität und Spezifität biochemischer Testverfahren in der Diagnostik des Phäochromozytoms. Vergleich von zwei Referenzstudien:
* Lenders *et al.* 2002; ** Manger *et al.* 2006

	Sensitivität				Spezifität			
	Hereditäres Phäo.		Sporadisches Phäo.		Hereditäres Phäo.		Sporadisches Phäo.	
	*	**	*	**	*	**	*	**
<u>Plasma</u>								
Metanephrine	97%	98%	99%	99%	96%	96%	82%	82%
Katecholamine	69%	68%	92%	92%	89%	89%	72%	72%
<u>24-Stunden-Sammelurin</u>								
Frakt. Metanephrine	96%	97%	97%	99%	82%	82%	45%	45%
Katecholamine	79%	76%	91%	90%	96%	96%	75%	75%
Ges. Metanephrine	60%	60%	88%	88%	97%	97%	89%	89%
Vanilinmandelsäure	46%	43%	77%	76%	99%	99%	86%	86%

Insbesondere bei grenzwertiger Erhöhung der Katecholamine im 24-Stunden-Sammelurin (d.h. bis etwa zum Doppelten des oberen Referenzwerts) wird zur Bestätigung bzw. zum Ausschluss eines Phäochromozytoms der Clonidin-Suppressionstest angewandt. Clonidin ist ein zentral wirksamer präsynaptischer alpha-2-Agonist, der die Freisetzung von Noradrenalin und Adrenalin aus sympathischen Nervenendigungen supprimiert. Ein auf ein Phäochromozytom hinweisendes Ergebnis liegt mit hoher Spezifität vor, wenn vor allem das Normetanephrin weder in den Normbereich noch um mindestens 40% des Ausgangswerts abfällt [Sjöberg *et al.* 1992, Whiting *et al.* 2009].

Bei der Bestimmung der Katecholamine und Metaboliten im Urin und Plasma sowie im Rahmen des Clonidin-Suppressionstests ist darauf zu achten, dass einige Medikamente (Alpha-Blocker, trizyklische Antidepressiva, MAO-Inhibitoren, Paracetamol, Levodopa usw.) mit den Testergebnissen oder mit der Analytik interferieren [Eisenhofer *et al.* 2003].

Grundsätzlich sollte daher die entsprechende Medikation überprüft bzw. wenn klinisch vertreten sogar pausiert werden, um falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse zu vermeiden. Physischer Stress wie zum Beispiel nach Eingriffen, Operationen, Schlaganfall oder Myokardinfarkt sowie beim Schlaf-Apnoe-Syndrom könnten ebenfalls die Ergebnisse verfälschen [Kudva *et al.* 2003].

Ein weiterer diagnostischer Marker kann Chromogranin A sein, das mit einer Sensitivität von bis 90% bei Phäochromozytom-Patienten ebenfalls erhöht ist. Allerdings ist die Spezifität gering, da auch andere neuroendokrine Tumoren Chromogranin A produzieren können [Cotesta *et al.* 2005]. Falsch-positive Befunde findet man auch bei Einnahme von PPI, bei Typ-A-Gastritis, Niereninsuffizienz, Herzinsuffizienz, Morbus Parkinson, rheumatoider Arthritis, während Schwangerschaft sowie bei anderen Krebsarten [Glinicki *et al.* 2010].

1.4.2 Bildgebende Diagnostik

Nach Sicherung der klinischen Diagnose eines Phäochromozytoms kommen zur Klärung der Lokalisation, aber auch mit der Frage nach einem zweiten Tumor oder Hinweise auf Metastasen, bildgebende Verfahren zum Einsatz.

Die sonographische Lokalisationsdiagnostik zeigt je nach Größe des untersuchten Kollektivs und natürlich auch in Abhängigkeit von der Erfahrung des Untersuchers eine Sensitivität zwischen 75 und 95% [Witteles *et al.* 2000]. Als sensitivstes Verfahren gelten (vor allem für die intraadrenalen Tumoren) die CT und MRT, die Sensitivität liegt hier zwischen 90 und 100%, die Spezifität zwischen 75 und 90% [Manger *et al.* 2004]. Vor allem intraadrenale Tumoren ab einer Größe von 1-2 cm werden mit nahezu 100%iger Genauigkeit erfasst, falsch negative Befunde resultieren wesentlich aus extraadrenal lokalisierten Paragangliomen. Die Vorteile der MRT liegen gegenüber dem CT in einer möglichen Anwendung auch bei Schwangeren, dem Verzicht auf Kontrastmittel, der eine hypertensive Exazerbation auslösen könnte, sowie einer gewissen Differenzierung adrener Tumoren in der T2-Wichtung [Baid *et al.* 2009, Werbel *et al.* 1995, Ilias *et al.* 2004].

Von großer Bedeutung für die Lokalisationsdiagnostik, vor allem zum Nachweis von multiplen Tumoren oder Metastasen, ist die Szintigraphie mit J^{123} -Metaiodbenzylguanidin (J^{123} -MIBG). Diese Substanz ist ein Guanethidin- und Noradrenalin-Analog mit hoher intrinsischer Affinität für chromaffine Zellen und wird über einen energie- und

natriumabhängigen spezifischen Transportmechanismus in die Zellen aufgenommen. Im Nebennierenmark sowie in Phäochromozytomen, Paragangliomen oder Metastasen wird ein signifikanter Anteil des MIBG transportiert, die MIBG-Szintigraphie wird daher sowohl als diagnostisches Verfahren als auch als Verlaufskontrolle angewandt [Ilias *et al.* 2004, Lynn *et al.* 1985]. Zu einem geringeren Teil erfolgt die Aufnahme auch unspezifisch, also per diffusionem, dieser Mechanismus ist dann verantwortlich für die dabei beobachtete Hintergrundaktivität. Die Standard-Dosis beträgt für Erwachsene 185 MBq, für Kinder je nach Gewicht zwischen 75 und 185 MBq. Ein weiterer Vorteil der Szintigraphie ist auch, dass zur Durchführung nicht auf die Therapie mit den üblichen alpha-adrenergen Blockern verzichtet werden muss [Ilias *et al.* 2004].

Entscheidend für die Indikationsstellung zur MIBG-Szintigraphie ist die Erkenntnis, dass dieses Verfahren extraadrenale Tumoren besser visualisiert als das CT. In etwa 80-85% der Tumoren besteht eine Übereinstimmung beider Verfahren, während in 15-20% der Tumornachweis nur durch eines der Verfahren gelingt. Die Sensitivität der Szintigraphie liegt zwischen 85 und 90%, die Spezifität zwischen 96 und 100% [Fujita *et al.* 2000, van der Harst *et al.* 2001, Grossman *et al.* 2006]. Falsch negativen Befunden der Szintigraphie liegen dabei in erster Linie entweder nekrotisch zerfallende Tumoren, die das Radiopharmakon nicht aufnehmen oder speichern können (Verlust der Reuptake-Kapazität), oder physiologische Überlagerungen zugrunde [Ilias *et al.* 2004].

Die Somatostatinrezeptorszintigraphie (111-Octreotid-Szintigraphie) ist eine sehr wertvolle Ergänzung der Lokalisationsdiagnostik, insbesondere bei Verdacht auf maligne Phäochromozytomen. Die Sensitivität und Spezifität ist niedriger als MIBG-Szintigraphie, aber sie kann entdifferenzierte MIBG-negative Tumoren und Metastasen entdecken. Diese Technik wurde daher beim malignen Phäochromozytom zunehmend eingesetzt [Breeman *et al.* 2001, Ilias *et al.* 2008]. Weitere Lokalisationsmethoden, die ebenfalls bei MIBG-negativen Phäochromozytomen angewendet werden könnten, sind das FDG-PET und das Fluorodopamin-PET [Ilias *et al.* 2004, Hoegerle *et al.* 2001].

Weiterhin kann auch die Endosonographie eine wichtige Rolle in der Diagnostik der Phäochromozytomen sowie Paragangliomen spielen. Mittels Endosonographie könnten kleine Phäochromozytome detektiert werden, die durch eine Bildgebung wie CT, MRT und/oder MIBG-Szintigraphie nicht primär nachweisbar sind. In bestimmten Fällen könnte die Endosonographie ebenfalls hilfreiche Informationen zur Planung des weiteren therapeutischen und operativen Vorgehens liefern. Eine Dignitätsklassifizierung der

Phäochromozytomen nach endosonographischen Kriterien war allerdings nicht möglich [Kann *et al.* 2004, Meyer *et al.* 2008, Kann *et al.* 2006].

Ein immer unter Alpha-Blockade durchzuführender selektiver Venenkatheter mit seitengetrennter Blutentnahme der Katecholamine aus den Nebennierenvenen ist nur noch in extrem seltenen Fällen indiziert. Eine Indikation wäre ein negatives MIBG-Szintigramm bei nicht eindeutigem CT/MRT-Befund [Newbould *et al.* 1991].

1.5 Therapie des Phäochromozytoms

Die Therapie der Wahl bei Phäochromozytom ist die chirurgische Entfernung der Tumoren. Um eine intraoperative unbeherrschbare hypertensive Krise wegen der Freisetzung von großen Mengen Katecholamine bei Tumorentfernung zu vermeiden, ist eine präoperative Behandlung mit alpha-Rezeptor-blockierenden Substanzen notwendig [Lenders *et al.* 2005]. Hierzu wird meistens Phenoxybenzamin (nicht-spezifischer alpha-Rezeptor-Antagonist), seltener Prazosin (postsynaptischer alpha1-Rezeptor-Antagonist) eingesetzt, wobei die Wirksamkeit der zwei Mitteln laut einer aktuellen Studie gleich sein sollte [Bruynzeel *et al.* 2010]. Mit der Therapie wird 10-14 Tage vor der Operation begonnen, um eine ausreichende Normalisierung des Blutdruckes und Blutvolumens und damit eine Senkung des intraoperativen Risikos zu erreichen. Eine optimale präoperative Einstellung wird erreicht, wenn die Blutdruckwerte konstant und möglichst im Normbereich über die letzten 2-3 Tage präoperativ bleiben, wobei die Patienten in dieser Phase oft über Nasenverstopfung, orthostatische Hypotonie und Müdigkeit klagen [Mihai *et al.* 2008]. Unerwünschte Wirkungen der alpha-Rezeptor-Blockade, z.B. Tachykardien, können dann mit einem β -Blocker, z.B. Propranolol, behandelt werden. Die Gabe eines β -Blockers ohne gleichzeitige alpha-Rezeptor-Blockade ist allerdings kontraindiziert, da es aufgrund der „Demaskierung“ von alpha-Rezeptoren theoretisch zu einem ausgeprägten paradoxen Blutdruckanstieg kommen kann [Sheaves *et al.* 1995]. In bestimmten Ausnahmesituationen werden präoperativ auch Calciumkanalantagonisten und noch seltener Metyrosin (alpha-Methyl-para-Tyrosin) angewendet [Ulchaker *et al.* 1999, Lebuffe *et al.* 2005, Steinsapir *et al.* 1997].

Operatives Verfahren der Wahl ist bei unilateralen benignen Tumoren die einseitige minimal-invasive videoassistierte endoskopische Adrenalektomie [Smith *et al.* 1999, Vargas *et al.* 1997, Kalady *et al.* 2004]. Hauptvorteil der minimal-invasiven Verfahren gegenüber den konventionell-offenen Verfahren sind schnellere Rekonvaleszenz und ein

niedrigerer Bedarf an perioperativen Analgetika [Humphrey *et al.* 2008]. Es stehen dabei prinzipiell retroperitoneale (dorsale oder laterale) und transperitoneale (anteriore und laterale) Zugangswege zur Auswahl. Der transperitoneale anteriore Zugang hat den Vorteil, dass er leichter erlernbar ist und optimale Übersicht bietet. Deshalb wird er von vielen Kliniken bevorzugt [Berber *et al.* 2009]. Bei abdominalen Voroperationen im ipsilateralen Oberbauch, bei einer Tumorgroße von mehr als 6 cm sowie beim Malignomverdacht wird bei Phäochromozytom jedoch der transperitoneale Zugangsweg über eine quere Oberbauchlaparotomie gewählt, da bei dieser Technik die Nebennierengefäße wesentlich einfacher vor ausgiebiger Manipulation am tumortragenden Organ dargestellt und ligiert werden können [Shen *et al.* 2007, Shen *et al.* 2004, Wells *et al.* 1998].

Beim sporadischen unilateralen Phäochromozytom wird aufgrund der häufigeren Malignominzidenz (5-10%) die unilaterale totale Adrenalektomie bevorzugt [Petri *et al.* 2009], während bei hereditären Formen Nebennierenrinde-parenchymsparende Operationsverfahren zur Anwendung kommen sollten [Neumann *et al.* 1999, Lee *et al.* 1996, Yip *et al.* 2004]. Eine minimal-invasive organerhaltende Tumorsektion wurde von Prof. Neumann aus Freiburg und Prof. Walz aus Essen als Standardmethode etabliert [Bausch *et al.* 2006]. Die subtotale Adrenalektomie kann die Notwendigkeit einer lebenslangen Hormonsubstitutionstherapie und somit das Risiko einer Addison-Krise vermeiden, es besteht allerdings theoretisch ein höheres Rezidivrisiko [Brauckhoff *et al.* 2004, Baghai *et al.* 2002, Walther *et al.* 2000]. Sollte eine bilaterale totale Adrenalektomie jedoch notwendig geworden sein, muss selbstverständlich eine Dauersubstitution mit Hydrocortison oder Cortisonacetat und ggf. Mineralokortikoiden begonnen werden. Die totale Adrenalektomie mit heterotoper Transplantation von medullafreiem Kortextgewebe hat sich bislang gegenüber der subtotalen Adrenalektomie nicht als erfolgreiche Alternative erwiesen [Okamoto *et al.* 1996]. Bei simultaner Diagnose eines medullären Schilddrüsenkarzinoms und eines Phäochromozytoms im Rahmen einer MEN 2 sollte zunächst der Katecholamin-produzierende Tumor entfernt werden [Raue *et al.* 2010].

Unmittelbar postoperativ tritt oft eine Hypotonie auf. Die Therapie der Wahl besteht dann in der Repletion des Plasmavolumens durch physiologische Kochsalzlösung und kolloidhaltige Lösungen. Sollte postoperativ eine Hypertonie auftreten, kommen als Ursache entweder ein Resttumor bzw. Metastasen oder eine vorbestehende essentielle Hypertonie bzw. eine Hypertonie aufgrund struktureller Gefäßwandadaptation bei lange bestehendem Phäochromozytom in Frage [van Braeckel *et al.* 2009].

Malignes Phäochromozytom. Die chirurgische Resektion ist auch bei malignem Phäochromozytom die Behandlung der Wahl. Auch wenn eine komplette Entfernung des Tumors nicht möglich ist, können „Debulking“-Operationen indiziert sein, um die Voraussetzung für nachfolgende radioablativ oder medikamentöse Verfahren zu verbessern und um die hormonelle Symptomatik besser beherrschen zu können. Bei Malignomverdacht erfolgt der Eingriff meistens transperitoneal, ggf. auch abdominothorakal als Zweihöhleneingriff, um eine intraoperative Tumoreröffnung mit Zellaussaat zu vermeiden. Wenn möglich, sollte eine radikale R0-Resektion erfolgen. Bei Invasion in benachbarte Organe (Zwerchfell, Milz, Magen, Kolon, Pankreas, Leber oder Niere) und fehlenden Fernmetastasen kann man sich eine multiviszerales En-bloc-Resektion überlegen. In diesem Fall ist eine paraaortale und paracavale En-bloc-Lymphadenektomie anzustreben. Die Resektion von isolierten Fernmetastasen kann im Einzelfall sinnvoll sein. Häufig treten Fernmetastasen allerdings multifokal und disseminiert auf [Eisenhofer *et al.* 2004, Arcos *et al.* 2009, Scholz *et al.* 2007, Lehnert *et al.* 2004].

Bei nicht resezierbaren bzw. bei palliativ operierten MIBG-positiven Phäochromozytomen steht die Therapie mit ¹³¹Jod-MIBG an erster Stelle. Die MIBG-Behandlung bringt bei 40 - 50% aller Patienten eine partielle Tumerverkleinerung oder eine deutliche Reduktion der Katecholaminfreisetzung und verlängert eindeutig das Überleben. Eine Vollremission ist allerdings nicht zu erwarten. An Nebenwirkungen könnten bei der Hochdosierung eine Knochenmarksuppression mit Panzytopenie, Hypothyreose und Nebenniereninsuffizienz beobachtet werden [Safford *et al.* 2003, Fitzgerald *et al.* 2006, Gedik *et al.* 2008]. Wenn operatives Bulking und die kumulative Dosis der MIBG-Therapie ausgeschöpft sind oder wenn MIBG-negative Tumoren vorliegen, sollte auch die Gabe von spezifischen submarkierten Somatostatinanaloga exploriert werden, da Somatostatinrezeptoren, insbesondere SST2- und SST4-Rezeptoren, kürzlich aber auch SST3-Rezeptoren, im Phäochromozytomgewebe beschrieben wurden (Gedik *et al.* 2008, Pasquali *et al.* 2008, Forrer *et al.* 2008, van Essen *et al.* 2006]. Eine Stabilität der Katecholaminfreisetzung und des Tumorwachstums wurde unter DOTATOC-Therapie in ca. 25% der Fälle, eine vorübergehende Remission in ca. 20% der Fälle berichtet [Eriksson *et al.* 1999]. Eine externe Strahlentherapie ist nur bei Skelettmetastasen zur Stabilisierung und Prävention von pathologischen Frakturen sinnvoll [Drasin 1978].

Eine begleitende medikamentöse Therapie hat die Blutdruck- und symptomatische Kontrolle zum Ziel. Auch hier ist die Gabe von Phenoxybenzamin Therapie der Wahl, die Langzeitdosierung benötigt allerdings niedrigere Dosen als die präoperative Therapie (z.B.

30-50 mg/Tag, auf 4 Dosen verteilt) [Wängberg *et al.* 2006, Bravo 2002]. In seltenen Fällen eines unkontrollierten Katecholaminexzesses kann alpha-Methyl-para-Tyrosin in Dosen bis zu 4 g/ Tag gegeben werden. Die Wirkung der Alpha-Methyl-para-Tyrosin wird durch die Hemmung der Tyrosin-Hydroxylase und somit Blockierung der Katecholaminbiosynthese erklärt, das wesentliche Problem besteht allerdings aus zentralnervösen Nebenwirkungen, wie z.B. Sedierung, Parkinsonismus oder Alpträume [Steinsapir *et al.* 1997, Kopf *et al.* 2001]. Kalziumantagonisten können ebenfalls die Katecholaminsynthese reduzieren und sind effektiv in der begleitenden Hochdrucktherapie [Bravo 2002].

Chemotherapeutisch kann bei metastasierenden Tumoren das so genannte „Averbuch-Schema“ eingesetzt werden [Averbuch *et al.* 1988]. Die „Averbuch“-Studie berichtete über eine laborchemische und symptomatische Befundbesserung unter der CVD-Therapie mit Cyclophosphamid (750 mg/m² KOF an Tag 1), Vincristin (1,4 mg/m² KOF an Tag 1) und Dacarbazin (600 mg/m² KOF an den Tagen 1 und 2) in Zyklen alle 21-24 Tagen bei 14 Patienten. Als Nebenwirkungen wurden eine leichte Knochenmarksuppression, periphere Neuropathie und gastrointestinale Toxizität beschrieben. Die Ergebnisse der längerfristigen Beobachtung unter der Chemotherapie zeigten ein komplettes Ansprechen bei 11%, partielles Ansprechen bei 44%, minimalen Response bei 16% und keinen Response bei 28% der Patienten sowie eine mediane Überlebenszeit für alle Patienten von 3,3 Jahren nach dem Beginn der Chemotherapie [Huang *et al.* 2008]. Die Empfehlung der Autoren war allerdings, dass CVD-Therapie nicht bei allen metastasierten Phäochromozytomen indiziert ist, eine Chemotherapie sollte jedoch bei symptomreichen Patienten diskutiert werden, sowie da wo eine Tumorverkleinerung vorteilhaft sein könnte.

In Einzelfallberichten wurde auch eine Therapie mit dem Tyrosin-Kinase-Inhibitor Sunitinib diskutiert, vor allem bei metastasiertem Paragangliom und von-Hippel-Lindau-Syndrom [Joshua *et al.* 2009, Jimenez *et al.* 2009]. Andere zukünftige Therapie-Optionen umfassen vor allem mTOR-Inhibitoren (möglicherweise in Kombination mit Kinase-Inhibitoren), HSP90-Inhibitoren sowie Multikinase-Inhibitoren für bestimmte molekulare Ziele: KIT, PDGF-R, VEGF sowie andere Kinasen [Adler *et al.* 2008].

1.6 Nachsorge

Die Therapiekontrolle und Nachsorge ist von größter Bedeutung, vor allem wegen der Rezidivgefahr des sporadischen Phäochromozytoms, der problematischen histologischen

Klassifizierung bzw. Identifizierung eines malignen Phäochromozytoms bei der Diagnosestellung, des familiär gehäuften Auftretens dieser Tumoren und weiterhin erhöhter Blutdruckwerte. Die Nachsorgeuntersuchungen sollten postoperativ zunächst in einem Abstand von drei bis sechs Monaten und dann einmal jährlich erfolgen, bei neuen Befunden und Auffälligkeiten gegebenenfalls auch häufiger [Pacak *et al.* 2005].

1.7 Genetische Grundlagen

Die meisten Katecholamin-produzierenden Tumoren sind sporadisch, dass heißt nicht erblich bedingt. Sie treten einmalig in einer Familie auf, und es handelt sich dabei um eine neu aufgetretene Mutation bzw. um eine zufällige, eigenständige Veränderung des Erbgutes, die nicht von den Eltern vererbt wurde. 15 - 20% der Patienten mit Phäochromozytom oder Paragangliom entwickeln diese Krankheit jedoch im Rahmen eines familiären Syndroms durch Vererbung bestimmter Mutationen von einem Elternteil [Neumann *et al.* 2002]. Einige Kriterien wie z.B. junges Alter des Patienten bei Diagnosestellung, bilaterale Lokalisation des Tumors und ähnliche Fälle in der Familienanamnese könnten auf ein familiäres Syndrom hinweisen. Eine genetische Diagnostik kann jedoch auch bei scheinbar klinisch sporadischen Phäochromozytomen den Nachweis einer typischen bzw. einem familiären Syndrom entsprechenden Mutation erbringen.

Die Pathogenese der sporadischen Tumoren ist bisher noch weitgehend ungeklärt. Phäochromozytome besitzen Rezeptoren für zahlreiche Wachstumsfaktoren, unter anderem für IGF-1 und IGF-2. Weiterhin werden Somatostatin-Rezeptoren, vor allem die Subtypen SST 2A, SST 3 und SST 4 exprimiert. Verschiedene andere Faktoren wie die Penetranz, die mütterlicher Prägung der sporadischen Mutationen sowie Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen können mehr oder weniger die Tumorentwicklung beeinflussen. Es ist auch denkbar, dass bestimmte Mutationen Loci von Tumorsuppressorgenen betreffen und so eine Rolle bei der malignen Entartung des Tumors spielen [Khosla *et al.* 1991].

Die molekulargenetische Diagnostik ist von besonderer Bedeutung vor allem bei der Identifizierung eines familiären Syndroms. Beim Vorliegen eines unilateralen oder bilateralen Phäochromozytoms kommen dann mehrere familiäre Syndrome in Frage, und zwar:

1.7.1 Multiple Endokrine Neoplasie Typ 2 (MEN 2)

Bei 5-10% der Patienten mit Phäochromozytom handelt es sich um ein MEN 2-Syndrom [Neumann *et al.* 2002], die Tumoren sind meistens bilateral, können allerdings asynchron auftreten. Andererseits entwickeln lediglich 40-50% der MEN 2-Patienten im Verlauf ein Phäochromozytom, während mehr als 90% der MEN 2-Patienten an einem medullären Schilddrüsen-Karzinom erkranken, das meistens auch der Signaltumor ist. Lediglich 10-20% der MEN 2-Patienten entwickeln einen Hyperparathyreoidismus bei Hyperplasie der

Epithelkörperchen, noch seltener wurde im Rahmen des MEN 2-Syndroms ein kutaner Lichen amyloidosis berichtet [Gullu *et al.* 2005, Donovan *et al.* 1989, Gertner *et al.* 2004, Ilias *et al.* 2009]. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der Diagnose eines MEN 2-Syndroms liegt zwischen der dritten und vierten Lebensdekade. Im Rahmen des MEN 2-Syndroms unterscheiden sich 3 Untergruppen, und zwar MEN 2A mit den oben genannten Manifestationen, MEN 2B mit medullärem Schilddrüsen-Karzinom, Phäochromozytom und zusätzlicher intestinaler und bukkaler Ganglioneuromatose und marfanoidem Habitus, sowie FMTC (familiäres medulläres Schilddrüsen-Karzinom) [Raue *et al.* 2007].

Das MEN 2-Syndrom geht auf konstitutionelle Mutationen des RET-Proteins bzw. des *RET*-Protoonkogens auf Chromosom 10 zurück, einem für Wachstums- und Differenzierungsvorgänge relevanten Protoonkogen, dessen Genprodukt ein Tyrosinkinase-Rezeptor mit Tyrosinkinase-Aktivität ist [Mulligan *et al.* 1994, Mulligan *et al.* 1995, Hofstra *et al.* 1994, Donis-Keller *et al.* 1993]. Aus immunhistochemischen Untersuchungen und durch mRNA-Bestimmungen während der Embryogenese bei Ratten ist bekannt, dass die Tyrosinkinase-Rezeptor für die Proliferation, Migration, Differenzierung und für das Überleben von Zellen aus der Neuralleiste von Bedeutung ist [Salomon *et al.* 1998, Marcos *et al.* 1996].

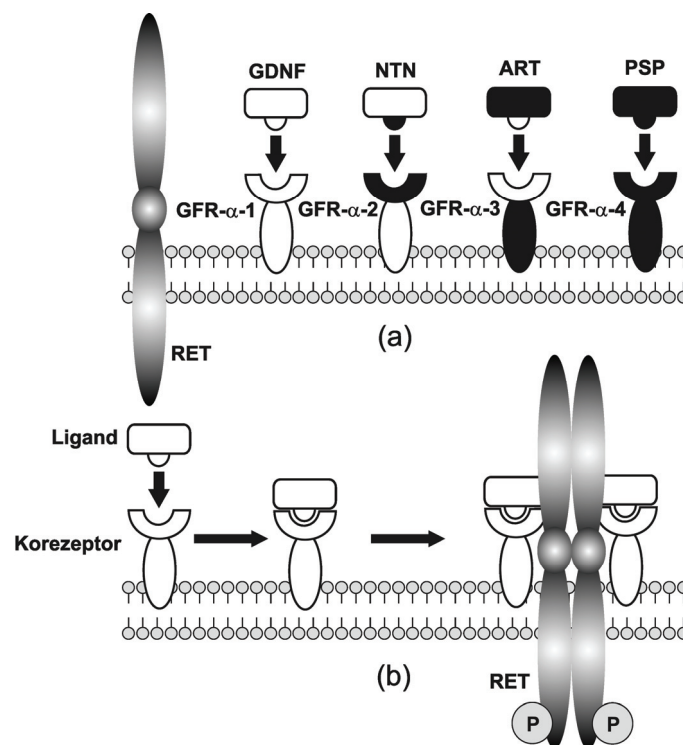


Abbildung 1.1: (a) Schematisches Diagramm des RET-Protein-Komplexes mit den entsprechenden Liganden (PSP= Persephin, NTN=Neurturin, GDNF= glial-cell-line-derived neurotrophic factor, ART=Artemin) und Co-Rezeptoren der GDNF- α -Rezeptor-Familie (GFR- α -1 bis -4). (b) Vermuteter Model der RET-Protein-Aktivierung durch Interaktion des Ligandes mit dem Ko-Rezeptor mit daraufhin folgender Dimerisierung des RET-Proteins, Autophosphorylierung und anschließend Übertragung des intrazellulären Signals [Hansford *et al.* 2000].

Als physiologische, stimulierende Liganden des Tyrosinkinase-Rezeptors wurden „glial-cell-line-derived neurotrophic factor“ (GDNF), Neurturin (NTN), Artemin und Persephin identifiziert, die spezifische Co-Rezeptoren der GDNF- α -Rezeptor-Familie (GFR- α -1, GFR- α -2, GFR- α -3 and GFR- α -4) erfordern [Trupp *et al.* 1996, Durbec *et al.* 1996, Kotzbauer *et al.* 1996, Treanor *et al.* 1996, Hansford *et al.* 2000, Baloh *et al.* 2000]. Die Interaktion dieser Moleküle führt zu einer Dimerisierung des RET-Proteins mit daraufhin folgender Autophosphorylierung des intrazellulären Bereichs des RET-Proteins bzw. zur anschließenden Übertragung des intrazellulären Signals (Abbildung 1.1).

Die MEN 2-Erkrankung wird autosomal-dominant vererbt. Ein defektes Allel, ein mutiertes *RET*-Protoonkogen ist ausreichend, um durch die dauernde Aktivierung zum Phänotyp der Erkrankung zu führen. Weltweit finden sich bei MEN 2 in 90 %, in Deutschland bei 99 % aller bekannten Familien, Mutationen im *RET*-Protoonkogen. Durch verschiedene Mutationen im *RET*-Protoonkogen kommt es zu einer permanenten ligandenunabhängigen konstitutiven Aktivierung des Rezeptors („gain of function“). Das ist anders als bei vielen anderen genetisch bedingten Neoplasien, bei denen es sich meistens um einen Verlust der Funktion („loss of function“) durch inaktivierende Mutationen der Tumorsuppressionsproteine handelt [Asai *et al.* 1995, Santoro *et al.* 1995]. Der jeweilige Phänotyp und die Verlaufsform der Erkrankung korrelieren zum Teil mit dem spezifischen Mutationsort auf dem *RET*-Protoonkogen (Abbildung 1.2).

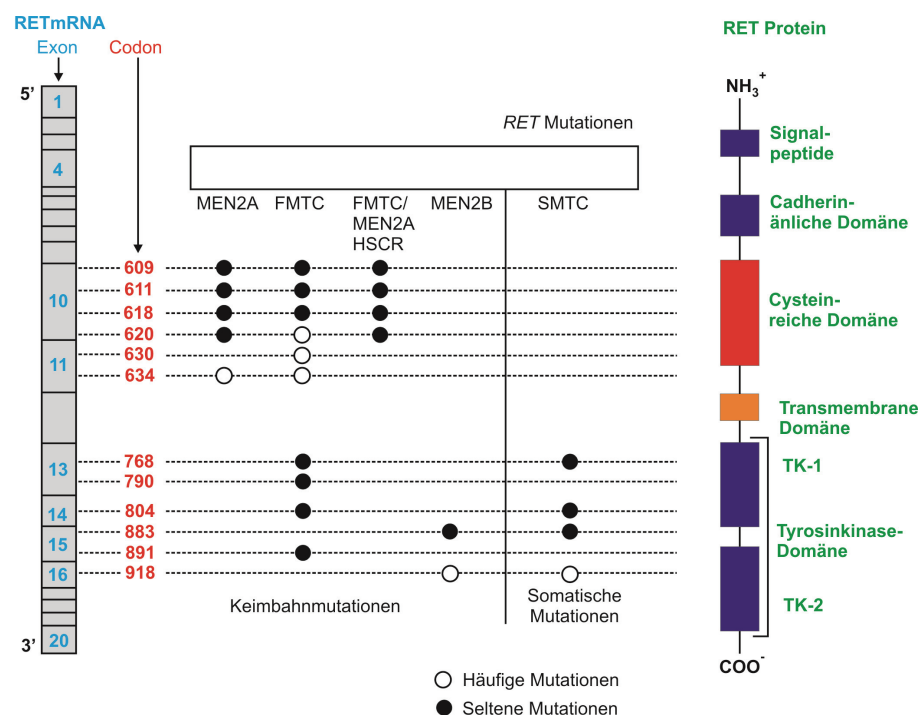


Abbildung 1.2: Lokalisation der verschiedenen Mutationen des *RET*-Protoonkogens auf molekulargenetischer Ebene und der entsprechenden Veränderungen in der Aminosäuresequenz im extra- und intrazellulären Bereich des RET-Proteins, sowie die Korrelation mit den MEN 2A-, FMTC- und MEN 2B-Syndromen [Eng *et al.* 1996].

Beim MEN 2A-Syndrom liegen die Mutationen im Exon 10 des Chromosoms 10 auf den Codons 609, 611, 618, 620 oder im Exon 11 auf den Codons 630 und 634 und entsprechen somit der cysteinreichen Region des extrazellulären Bereichs des RET-Proteins [American Thyroid Association Guidelines Task Force *et al.* 2009, Frank-Raue *et al.* 2011]. Die häufigsten Mutationen liegen vor allem auf Codon 634. Phänotypisch zeigt sich hier eine hohe Wahrscheinlichkeit, an einem Phäochromozytom zu erkranken. Eine Sonderstellung für den Verlauf der Erkrankung scheinen die seltenen Mutationen in der intrazellulären Tyrosinkinase-Domäne des RET-Rezeptors einzunehmen (Exon 13: Codon 768, Exon 14: Codon 804 und Exon 15: Codon 891). Meist treten nur medulläre Schilddrüsenkarzinome auf (FMTC, „familial medullary thyroid carcinoma“), deren klinischer Verlauf in der Regel milde ist. Phäochromozytome kommen dabei nicht oder selten vor. Eine Ausnahme stellen die Mutationen im Codon 790 des Exons 13 dar. Medulläre Schilddrüsenkarzinome kommen in diesen Fällen mit einer Penetranz von deutlich weniger als 100% vor, wo hingegen in einigen Fällen Phäochromozytome als erste Manifestation auftreten [American Thyroid Association Guidelines Task Force *et al.* 2009, Frank-Raue *et al.* 2011, Ritter *et al.* 1999, Neumann *et al.* 2002, Frank-Raue *et al.* 1996, Frank-Raue *et al.* 2007]. Die bis vor kurzem als pathogen eingestufte Variante *RET* p.Tyr791Phe scheint laut der Arbeit von Erlic *et al.* ein Polymorphismus zu sein [Erlic *et al.* 2010].

Bei circa 60% der MEN 2B-Familien liegt eine Neumutation vor. In 95% der Fälle kommt es auf der Tyrosinkinase-Domäne des Exons 16 auf Codon 918 zu einem Aminosäureaustausch von Methionin zu Threonin. In 3-5% finden sich Veränderungen auf Codon 883 des Exons 15 und auf Codon 922 des Exons 16 [Frank-Raue *et al.* 2007].

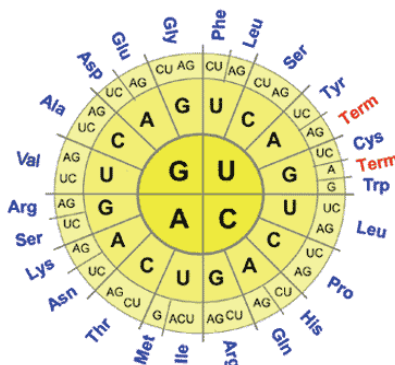


Abbildung 1.3: Die Code-Sonne: Drei Basen von innen nach außen gelesen ergeben die von dem Tripletts kodierte Aminosäure, zum Beispiel das Tripletts CAC die Aminosäure Histidin (His).

An den oben genannten Lokalisationen kommt es bei MEN 2 zu Punktmutationen mit Veränderung jeweils einer organischen Base im genetischen Code bzw. eines Basentripletts. Da aber viele Aminosäuren von mehreren Basentripletts kodiert werden (s. die Code-Sonne, Abbildung 1.3) hat nicht jeder Basenaustausch in der DNA zwingend

einen Aminosäureaustausch im Protein zur Folge. In der Abbildung 1.4 sind die bisher bekannten Mutationen des *RET*-Protoonkogens dargestellt.

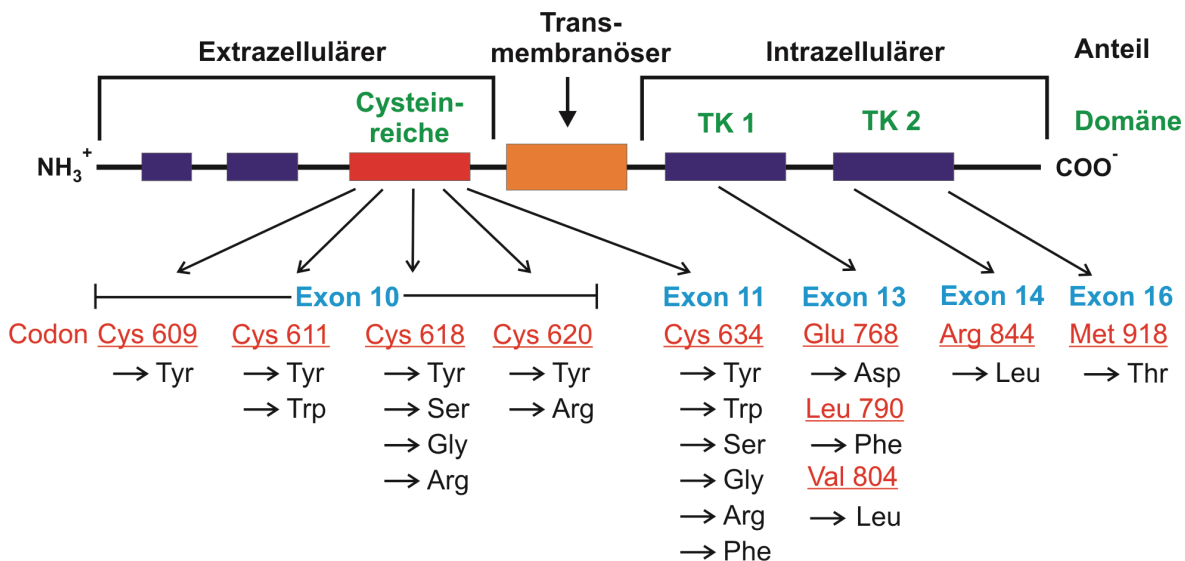


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung des *RET*-Protoonkogens mit den bisher bekannten Mutationen [Ritter *et al.* 1999].

1.7.2 Von Hippel-Lindau-Syndrom (VHL)

Beim VHL-Syndrom handelt es sich um eine autosomal-dominant vererbare Erkrankung mit einer Inzidenz von 1:35 000 bis 1:40 000, bei der klinisch das Auftreten einer Vielzahl von benignen und malignen Läsionen imponiert [Maher *et al.* 1990, Lonser *et al.* 2003, Maher *et al.* 1997]. Charakteristisch sind zerebelläre Tumoren (Lindau-Tumoren) oder spinale Tumoren, die immer Hämangioblastome sind, außerdem retinale Angiomatose, Nierenzellkarzinome, Zysten in verschiedenen parenchymatösen Organen (Nieren, Pankreas, Nebenhoden) und Phäochromozytome oder seltener Paragangliome. Klinisch werden VHL-Familien nach Abwesenheit (Typ 1) oder Anwesenheit des Phäochromozytoms (Typ 2) klassifiziert, beim Typ 2c findet sich ausschließlich ein Phäochromozytom (Tabelle 1.3) [Kim *et al.* 2004].

Tabelle 1.3: Klinische Einteilung des VHL-Syndroms. Grundlage dafür ist das unterschiedliche Auftreten von Hämangioblastomen, Nierenzellkarzinomen und Phäochromozytomen [Kaelin 2002].
(+) hohes Risiko; (-) kein oder geringes Risiko.

	Hämangioblastome	Nierenzellkarzinome	Phäochromozytome
Typ 1	+	+	ohne
Typ 2a	+	ohne	+
Typ 2b	+	+	+
Typ 2c	ohne	ohne	+

Phäochromozytomen treten bei ca. 10-20% der VHL-Patienten auf, allerdings häufiger in der Gruppe der Typ 2c-Patienten. Das Alter bei der Diagnosestellung liegt durchschnittlich bei 30 Jahren. Gelegentlich treten die Phäochromozytomen auch im jüngeren Alter auf, pädiatrische Fälle sind daher nicht selten. Bei VHL-Patienten kommt das Phäochromozytom uni- und bilateral, aber auch als Glomus-caroticum- oder Glomus-vagale-Paragangliom oder als paraaortales Paragangliom vor. In ca. 35% der Fälle kann das Phäochromozytom asymptomatisch verlaufen. Ca. 5% aller Phäochromozytome bei VHL sind bösartig [Walther *et al.* 1999].

Das *VHL*-Gen ist in der chromosomalen Region 3p25-26 lokalisiert und kodiert bei gesunden Patienten das VHL-Tumorsuppressorprotein. Es spielt eine große Rolle in der proteasomalen Degradation verschiedener anderer Proteine, vor allem des Hypoxie-induzierten Faktors-1 (HIF-1) aber auch anderer an der Tumorgenese beteiligter Faktoren (z.B. Matrix Metalloproteinasen [MMP] wie MMP1, MMP-Inhibitoren und atypische Proteinkinase C) und reguliert somit ihren intrazellulären Spiegel [Kim *et al.* 2004, Kaelin 2002, Sufan *et al.* 2004, Barry *et al.* 2004, Pugh *et al.* 2003]. Der Hypoxie-induzierte Faktor-1 reguliert die Transkription bzw. Bildung von Erythropoietin sowie anderer Wachstumsfaktoren wie z.B. VEGF (vascular endothelial growth factor), PDGF-beta (platelet-derived growth factor) und TGF-alpha (transforming growth factor) [Kim *et al.* 2004, Sufan *et al.* 2004, Barry *et al.* 2004].

Entsprechend dem „two-hit“ Model vom Knudson kommt es beim VHL-Syndrom zu einer heterozygoten Mutation des *VHL*-Gens mit anschließendem somatischem Verlust des Wildtyp-Allels im Tumorgewebe [Maher *et al.* 1997, Knudson *et al.* 1973]. Das führt zu einer Inaktivierung oder Fehlfunktion des VHL-Tumorsuppressorproteins mit anschließender reduzierter proteasomaler Degradation des HIF-1 bzw. mit erhöhter Bildung von Erythropoietin (wie bei einer Hypoxie) und anderen Wachstumsfaktoren. Die kombinierte Wirkung der verschiedenen Angiogenese- und Wachstumsfaktoren regt dann wahrscheinlich ein permanentes „autokrines Loop“ mit einem unkontrollierten Wachstumsstimulus an [Kim *et al.* 2004, Kaelin 2002, Sufan *et al.* 2004, Barry *et al.* 2004, Pugh *et al.* 2003, de Paulsen *et al.* 2001] (Abbildung 1.5).

Genomische *VHL*-Mutationen werden bei nahezu allen VHL-Familien gefunden. Bisher wurden über mehr als 500 unterschiedliche genomische *VHL*-Mutationen in der von Prof. Christophe Bérout aus dem „Arnaud de Villeneuve“ Krankenhaus in Montpellier, Frankreich, geführte „Worldwide VHL Mutations“ Datenbank aufgezeichnet.

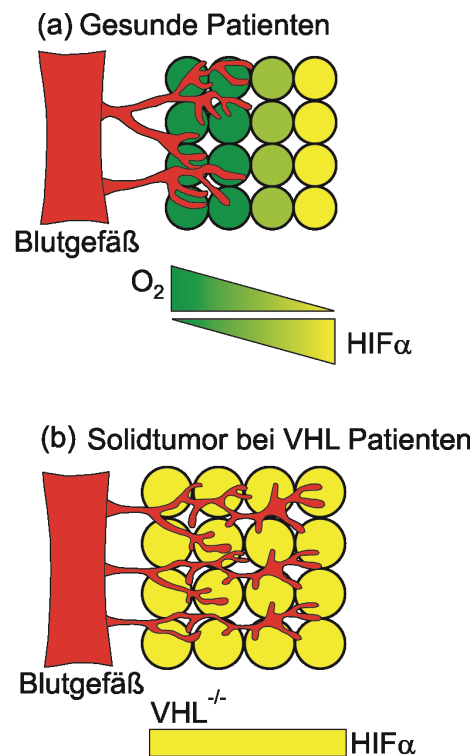


Abbildung 1.5: Die Rolle des HIF-1 in der Tumorgenese.

(a): Bei gesunden Patienten kommt es unter hypoxischen Bedingungen zu einer reduzierten proteasomalen Degradation von HIF-1 bzw. zu einem erhöhten Spiegel von HIF-1 und somit zu einer erhöhten Angiogenese als normale Reaktion zur Hypoxie. (b): Bei VHL-Patienten führt die Fehlfunktion des VHL-Tumorsuppressorproteins zu einer kontinuierlich reduzierten Degradation des HIF-1 mit entsprechender erhöhter Bildung von Erythropoietin und anderen Wachstumsfaktoren. Es kommt somit zu einer erhöhten Angiogenese und zu einem unkontrollierten Tumorwachstum mit Bildung von VHL-Tumoren [Barry *et al.* 2004].

Missense-, nonsense-, splice-site-Mutationen, Mikrodeletionen und Insertionen wurden in ca. zwei Drittel der Patienten nachgewiesen, der restlicher ein Drittel der Patienten weist große Deletionen (4–380 kb) auf [Zbar *et al.* 1996, Stolle *et al.* 1998]. Deletionen sowie nonsense- und frameshift-Mutationen des *VHL*-Gens sind typischer für Typ 1, während missense-Mutationen eher zum Typ 2 passen [Kaelin 2002, Neumann *et al.* 1998, Neumann *et al.* 1995]. Darüber hinaus haben multiple Genotyp-Phänotyp-Korrelations-Studien gezeigt, dass VHL-Familien mit Phäochromozytom in mehr als 90% der Fälle Missense-Mutationen, Familien mit Nierenzellcarzinom hingegen das ganze Spektrum der Mutationen aufweisen [Neumann *et al.* 1995]. Vor allem Missense-Mutationen im Codon 167 sind mit einem besonders hohen Risiko für Phäochromozytome assoziiert (>80% der Fälle im Alter von 50 Jahren) [Maher *et al.* 1996].

Auch wenn die Tumorgenese vieler Manifestationen des VHL-Syndroms verstanden wurde, bleibt die exakte Rolle des VHL-Proteins in der Entwicklung von Phäochromozytomen in VHL-Patienten noch umstritten. Typ 2c-Patienten weisen als einzige Manifestation des VHL-Syndroms Phäochromozytome oder seltener

Paragangliome auf und scheinen die Fähigkeit zur Herabregulierung des HIF-1 beizubehalten [Zbar *et al.* 1996, Hoffman *et al.* 2001, Clifford *et al.* 2001], während die Mutationen der Patienten mit Typ 2a und 2b die proteosomale Degradation des HIF-1 in unterschiedlichem Ausmaß beeinflussen. Diese Tatsache könnte darauf hinweisen, dass HIF-1 nicht relevant für die Entwicklung des Phäochromozytoms ist, oder dass in diesen Fällen die Inaktivierung des VHL-Proteins nicht auftritt. Das könnte bedeuten, dass es einen anderen in der Tumorgenese des Phäochromozytoms beteiligten molekularen Mechanismus gibt. Die Transkription des Tyrosinhydroxylase(TH)-Gens, das eine entscheidende Rolle in der Synthese der Katecholamine spielt, ist jedoch Hypoxie-induzierbar und scheint vom VHL-Protein reguliert zu sein [Schnell *et al.* 2003, Kroll *et al.* 1999, Bauer *et al.* 2002]. Die beim Phäochromozytom festgestellte konstitutive Heraufregulierung der Expression des TH-Gens könnte somit durch die reduzierte proteosomale Degradation des HIF-1 zum Teil bedingt sein. Darüber hinaus haben Typ 2c-Patienten wegen der Inaktivierung des VHL-Proteins die Fähigkeit zur Bindung an Fibronektin bzw. zur Regulierung des Fibronektins verloren [Hoffman *et al.* 2001, Clifford *et al.* 2001]. Dieser Mangel könnte darauf hinweisen, dass abnorme extrazelluläre Matrix-Bildung für die Pathogenese des Phäochromozytoms zum Teil verantwortlich sein könnte. Ein Zusammenhang zwischen dem Mangel an Fibronektin-Matrix und Phäochromozytom erklärt allerdings nicht, warum Typ 1-Mutationen kaum Phäochromozytom verursachen, vor allem wenn einige dieser Mutationen mit einem kompletten Funktionsverlust des VHL-Proteins eigentlich einhergehen. Es wurde vermutet, dass entweder die Phäochromozytom bildenden Zellen keinen Funktionsverlust des VHL-Proteins tolerieren, oder es beim mutierten VHL-Protein zu einer bisher noch nicht bekannten Aktivierung („gain of function“) kommt [Hoffman *et al.* 2001].

1.7.3 Neurofibromatose Typ 1 (NF1)

Die NF1, auch klassisch Morbus Recklinghausen genannt, ist eine autosomal-dominante Erkrankung mit einer Inzidenz von 1:2500 bis 1:3000 Lebendgeburten [Lammert *et al.* 2005, Evans *et al.* 2010]. Klinisch ist diese Erkrankung zum Einen durch pigmentierte Läsionen der Haut (Café-au-lait Flecken), zum Anderen durch überwiegend benigne Tumoren der peripheren Nerven, welche aus Schwannschen Zellen und Fibroblasten bestehen und Neurofibrome genannt werden, charakterisiert [Gutmann *et al.* 1997]. Dazu zählen neben den Optikusgliomen, Ependymomen, Meningeomen und Astrozytomen auch Phäochromozytome, welche bei etwa 1-2% aller Patienten mit einer NF1 auftreten. Umgekehrt findet sich bei 5-8% der Patienten mit Phäochromozytom eine

Neurofibromatose [Walther *et al.* 1999]. Das Phäochromozytom der NF1-Patienten tritt meistens unilateral (ca. 84%), gelegentlich bilateral (ca. 10%) und selten paraadrenal (ca. 6%) auf [Walther *et al.* 1999]. Das Alter der NF1-Patienten bei der Diagnosestellung des Phäochromozytoms liegt durchschnittlich bei 42 Jahren [Walther *et al.* 1999].

Die NF1 entsteht durch eine Mutation des auf Chromosom 17q11-12 lokalisierten *NF1*-Gens, welches das Protein Neurofibromin kodiert [Ledbetter *et al.* 1989, Feldkamp *et al.* 1998, Shen *et al.* 1996]. Neurofibromin wurde vor allem in Neuronen, Oligodendrozyten und Schwann Zellen der Erwachsenen nachgewiesen, aber auch in anderen Zellen wie Keratinozyten, Nebennierenmarkzellen und Leukozyten [Ledbetter *et al.* 1989, Feldkamp *et al.* 1998, Shen *et al.* 1996]. Neurofibromin zeichnet sich durch eine kleine GAP (Ras-GTP-ase aktivierendes Protein)-Domäne aus, die die intrinsische GTP-ase Aktivität der p21-Ras-GTP aktiviert und somit die Hydrolyse von GTP zu GDP induziert. Das Ergebnis ist die Inaktivierung des p21-Ras-Onkogens [Ahmadian *et al.* 1996, Bollag *et al.* 1991, Martin *et al.* 1990]. Das p21-Ras-Onkogen ist eine entscheidende Komponente vieler intrazellulärer Signaltransduktionswege und Neurofibromin spielt somit die Rolle eines Tumorsuppressor-Proteins dieser intrazellulären Signaltransduktionswege [Ahmadian *et al.* 1996, Bollag *et al.* 1991] (Abbildung 1.6).

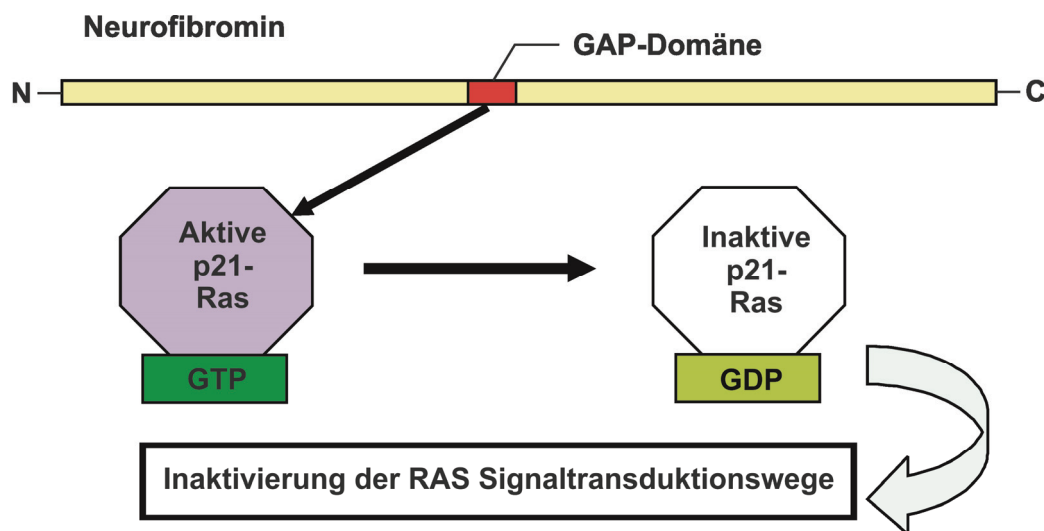


Abbildung 1.6: Schematische Darstellung des vermuteten Wirkmechanismus der GTPase-aktivierende (GAP)-Region des NF1-Genproduktes Neurofibromin. Die GAP-Region aktiviert die intrinsische GTPase-Aktivität des ras-Protoonkogenproduktes p21ras. Dadurch wird die aktive, das Zellwachstum stimulierende GDP-Form in die inaktive, das Zellwachstum nicht stimulierende GDP-Form überführt. Das Resultat der Interaktion von Neurofibromin mit p21ras-GTP wäre danach eine Hemmung des Zellwachstums, was bei NF1 nicht mehr der Fall ist [Ahmadian *et al.* 1996, Bollag *et al.* 1991].

Die zurzeit bekannten Mutationen des *NF1*-Gens führen meistens zur Bildung eines verkürzten und nichtfunktionalen Neurofibromins [Shen *et al.* 1996]. Durch den Funktionsverlust des Tumorsuppressor-Proteins kommt es zur Entwicklung der

verschiedenen klinischen Manifestationen der NF1-Erkrankung. Die zurzeit bekannten Mutationen der *NF1* setzen sich aus verschiedenen molekularen Defekten zusammen, darunter kurzstreckige und langstreckige Insertionen, Deletionen, Duplikationen, aber auch Punktmutationen. Circa 82% der bekannten Mutationen sind entweder Nonsense- oder Frameshift-Mutationen [Shen *et al.* 1996]. NF1 zeichnet sich auch durch eine hohe Neumutationsrate von ca. 50% aus, die der höchsten Neumutationsrate der bisher bekannten Einzelgen-Erkrankungen entspricht [Brannan *et al.* 1994]. Wenige Genotyp-Phänotyp-Korrelationen sind bekannt, wobei komplette Deletionen im *NF1*-Gen mit einem schweren Verlauf einherzugehen scheinen [Theos *et al.* 2006].

Im Vergleich zum VHL-Syndrom wurden bei der NF1 keine typischen Mutationen für die Entwicklung eines Phäochromozytom nachgewiesen [Walther *et al.* 1999]. Einigen Untersuchungen zufolge fehlt bei Phäochromozytomen der NF1-Patienten die Neurofibrominexpression komplett [Gutmann *et al.* 1994]. Dieser totale Verlust der Neurofibrominexpression könnte, wie beim VHL-Syndrom, durch den Knudsons „two-hit“-Model erklärt werden. Durch einen „second hit“ auf dem 2. Allel des *NF1*-Gens im chromaffinen Gewebe des Nebennierenmarks kommt es zum Verlust der Heterozygotie am Tumorsuppressor-Lokus, der zur Entstehung des Phäochromozytoms beiträgt bzw. dieses verursacht [Knudson *et al.* 1973, Colman *et al.* 1995, Bausch *et al.* 2007].

1.7.4 Familiäres Paragangliom (familiäres PGL)

Paragangliom (PGL) dient als Oberbegriff für die Gesamtheit der Phäochromozytome und der Tumoren des extraadrenalen paraganglionären Systems [Klöppel *et al.* 2003]. Das extraadrenale paraganglionäre System ist verteilt durch den ganzen Körper und spielt eine wichtige Rolle in der Homöostase entweder als direkter chemischer Sensor oder durch Sekretion von Katecholaminen in einer Stresssituation [Baysal 2002]. Die PGL sind seltene, im Regelfall benigne Tumore neuroektodermalen Ursprungs [Baysal 2002]. Die WHO-Klassifikation unterscheidet parasymphatische von sympathischen PGL. Die parasymphatischen PGL, auch non-chromaffine PGL genannt, wachsen meist im Bereich des Kopf-Halses um Gefäß-Nerven-Strukturen als Glomus-caroticum-PGL, Glomus-vagale-PGL und als jugulotympanale PGL. Die sympathischen PGL, auch chromaffine PGL genannt, könnten im gesamten Körper sowohl intraabdominell (paraaortal, paraadrenal, im Becken usw.) als auch intrathorakal lokalisiert werden [Glenner *et al.* 1974, Erickson *et al.* 2001, Martin *et al.* 2006]. Der anatomische Unterschied hängt auch mit der autonomen Funktion und mit der endokrinen Aktivität zusammen. Somit, lediglich

Studien weisen darauf hin, dass die *SDH*-Mutationen eine intrazelluläre Ansammlung von Succinate und reaktiven Sauerstoffspezien (ROS) verursachen, die zu einer konsekutiven Stabilisierung des HIF-1 und somit zu einer kontinuierlichen Aktivierung der intrazellulären Signaltransduktionswege mit unkontrolliertem Tumorwachstum führen [Baysal 2008]. Auch bei den familiären PGL könnte der Knudsons „two-hit“ Model gelten [Knudson *et al.* 1973, Lee *et al.* 2003, Martin *et al.* 2007] (Abbildung 1.7).

Molekulargenetisch konnten 4 Entitäten der familiären PGL unterschieden werden, und zwar PGL-1 mit Mutationen des *SDHD*-Gens auf 11q23 [Astuti *et al.* Lancet. 2001, Baysal *et al.* 2000, Gimm *et al.* 2000], PGL-2 mit Mutationen auf 11q13 (Gen *SDH5* oder *SHAF2* genannt) [Mariman *et al.* 1995], PGL-3 mit Mutationen des *SDHC*-Gens auf 1q21 [Niemann *et al.* 2000, Niemann *et al.* 2003], und PGL-4 mit Mutationen des *SDHB*-Gens auf 1p21 [Astuti *et al.* Am J Hum Genet. 2001, Baysal *et al.* 2002] (Tabelle 1.4).

Tabelle 1.4: Übersicht über die Paragangliom-Syndrome [Schmahl *et al.* 2008]

PGL-1	Familiäre Glomustumoren des Kopf-Hals-Bereichs	<i>SDHD</i> -Gen-Veränderungen auf Chromosom 11	Niedriges Entartungsrisiko
PGL-2	Familiäre Glomustumoren	<i>SDH5/SDHAF2</i> -Gen-Veränderungen auf Chromosom 11	
PGL-3	Familiäre Glomustumoren	<i>SDHC</i> -Gen-Veränderungen auf Chromosom 1	
PGL-4	Familiäre Glomustumoren und Phäochromozytome	<i>SDHB</i> -Gen-Veränderungen auf Chromosom 1	Hohes Entartungsrisiko Maligne Zweitkarzinome (Nierenzellkarzinom, AML, papilläres Schilddrüsenkarzinom)

Mutationen in *SDHD* und *SDHC* sind eher typisch für familiäre PGL im Kopf-Hals-Bereich, selten wurden auch adrenale Phäochromozytome nachgewiesen. Typisch für *SDHD*-Mutationen ist das geschlecht-abhängige Vererbungsmuster („maternal imprinting“). Nur Kinder, deren Väter Mutationsträger sind, können an diesem Syndrom erkranken, wohingegen Kinder mutationstragender Mütter tumorfrei bleiben [Astuti *et al.* Lancet. 2001, Baysal *et al.* 2000, van der Mey *et al.* 1989, Neumann *et al.* 2004, Gimenez-Roqueplo *et al.* 2003]. *SDHB*-Mutationen wurden vor allem mit abdominellen, pelvinen und thorakalen Katecholamin-produzierenden familiären PGL assoziiert. Die Träger der

SDHB-Mutationen weisen auch ein höheres Risiko für maligne familiäre PGL und zusätzliche Neoplasmen wie Nierenzellkarzinome auf [Neumann *et al.* 2004, Gimenez-Roqueplo *et al.* 2003]. Die Träger der *SDHB*-Mutationen entwickeln das familiäre PGL meistens als junge Erwachsene. Das Alter für das Auftreten der familiären PGL liegt somit durchschnittlich bei 34 Jahren, während die Patienten mit sporadischen PGL einen Altersmittelwert von 47 Jahren aufweisen [Paris *et al.* 2006].

Das Gen für PGL-2 wurde zunächst nicht erkannt, jedoch auf 11q13.1 lokalisiert [Mariman *et al.* 1995]. Im Jahr 2009 Hao und Rutter haben nachgewiesen, dass 11q13.1 eigentlich der genomische Locus des so genannten hSDH5 Proteins ist, und haben sein Hefe-Ortholog, das SDH5 Protein, ausführlich untersucht [Hao *et al.* 2009]. Es wurde gezeigt, dass hSDH5 an SDHA (SDH1 bei der Hefe) bindet und mindestens indirekt die Flavination der SDHA fördert. Diese chemische Reaktion scheint notwendig für den Aufbau und für die richtige Funktion des SDH-Komplexes zu sein. Ein SDH5-Verlust bei der Hefe reduziert auch die Menge an anderen SDH-Komponenten, am ehesten bedingt durch einen intensiveren Abbau des geänderten und teilweise funktionslosen SDH-Komplexes. Hao und Rutter haben ebenfalls eine menschliche hSDH5 Variante in einer holländischen Familie mit familiären PGL im Kopf-Hals-Bereich identifiziert. Sie haben somit nachgewiesen, dass *hSDH5*-Mutationen, ähnlich wie die Mutationen der Untereinheiten B, C und D des SDH-Komplexes, zur Entwicklung von familiären PGL durch aufgehobene SDH-Funktion führen können. Patienten mit PGL-2 scheinen ebenfalls ein geschlecht-abhängiges Vererbungsmuster („maternal imprinting“) aufzuweisen, wie bei den Träger der *SDHD*-Mutationen [Hao *et al.* 2009]. Seit der Entdeckung des *SDH5*-Gens durch Hao und Rutter wurden weitere Familien mit *SDH5*-Mutationen, neulich *SDHAF2*-Mutationen genannt, identifiziert. Da bisher keine sympathischen familiären PGL bei den *SDHAF2*-Trägern nachgewiesen wurden, werden *SDHAF2*-Mutationen lediglich für familiäre PGL im Kopf-Hals-Bereich für verantwortlich gehalten [Bayley *et al.* 2010].

Mutationen des *SDHA*-Gens wurden zunächst lediglich mit der juvenilen Enzephalopathie, auch Leigh Syndrom genannt, assoziiert. Erst im Jahr 2010 wurde von Burnichon *et al.* ein Patient mit PGL als Manifestation einer *SDHA*-Mutation (p.Arg589Trp) identifiziert [Burnichon *et al.* 2010]. Burnichon erbrachte somit den Beweis, dass auch *SDHA*-Mutationen PGL verursachen, und das am ehesten einem Tumorsuppressor-Gen nach dem Knudsons „two-hit“ Model entsprechend.

1.7.5 Andere neue Entdeckungen

Im Jahr 2010 berichteten Qin *et al.* über heterozygotische Keimbahnmutationen des *TMEM127*-Gens auf dem Chromosom 2q11 bei sieben Patienten mit Phäochromozytom. Sie haben nachgewiesen, dass *TMEM127*-Gen ebenfalls eine Rolle als Tumorsuppressor-Gens in der Entwicklung von Phäochromozytomen spielt. Auch hier scheint der Knudsons „two-hit“ Model relevant zu sein. Darüber hinaus haben Microarray-Genexpressionsanalyse gezeigt, dass *TMEM127*-mutierte Tumoren eine Transkriptionssignatur ähnlich zu der von *RET*- und *NFI*-mutierten Phäochromozytomen (intrazelluläre Signaltransduktionswege via Tyrosinkinase-Rezeptoren) aufweisen. Es zeigte sich somit einen klaren Unterschied zu den *SDH*- und *VHL*-mutierten Phäochromozytomen, die durch Aktivierung von Hypoxie-bedingten Mechanismen ausgezeichnet sind. Die exakte Prävalenz der *TMEM127*-bedingten Phäochromozytome ist noch unbekannt und erfordert die Untersuchung größerer Patientengruppen [Burnichon *et al.* 2011].

1.8 Fragestellung der Studie

Die vorgelegte Dissertation entstand in Zusammenarbeit mit der Freiburger Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann, mit dem Ziel, ein repräsentatives Marburger Patientengut mit Phäochromozytomen und extraadrenalen Paragangliomen zusammenzustellen und mit den verfügbaren molekulargenetischen Methoden zu charakterisieren. Durch die Untersuchung des *RET*-Gens mit den Exons 10, 11, 13-16 sowie der Gene *VHL*, *SDHB* und *SDHD* mit allen Exons bei Patienten mit Phäochromozytomen oder extraadrenalen Paragangliomen war von zentralem Interesse eine Genotyp-Phänotyp-Analyse dieser Patienten anhand der erfassten klinischen und molekulargenetischen Daten und im Vergleich zur aktuellen Datenlage.

Vor diesem Hintergrund lassen sich zusätzlich die folgenden Fragestellungen fassen:

- 1) Klinische Charakterisierung der syndromalen im Vergleich zu den spontanen Phäochromozytomen und Paragangliomen, bezogen auf Alter, Geschlecht, Produktion von Katecholaminen, Lokalisation und Zahl der Tumoren sowie Vorkommen maligner Tumoren
- 2) Wie sind die Penetranz und die Expressivität der Mutationen bzw. die Variabilität der Manifestationen?
- 3) Wann ist eine genetische Untersuchung bei Patienten mit Phäochromozytom oder Paragangliom sinnvoll? Welche Parameter müssen mitberücksichtigt werden? Welches molekulargenetische Screening-Algorithmus scheint effektiver zu sein? Ab welchem Alter ist eine genetische Untersuchung sinnvoll?
- 4) Welche Relevanz hat die molekulargenetische Untersuchung für die Patienten mit Phäochromozytomen oder Paragangliomen? Welche Relevanz hat sie für ihre Angehörigen?
- 5) Helfen uns seltene Phänotypen mehr über die Pathogenese der Phäochromozytome und Paragangliome zu verstehen?

2 Patientengut und Methoden

2.1 Patientengut

Mit Hilfe des klinikinternen Patientenverwaltungssystems „Orbis“ erfolgte eine Suche aller Patienten, die sich im Zeitraum von 1. März 2000 bis 2. Februar 2006 in der Klinik für Gastroenterologie, Endokrinologie & Diabetologie, Bereich Endokrinologie & Diabetologie vorstellten. Als weiteres Suchkriterium wurden die Diagnosekürzel für „Gutartige Neubildung: Nebenniere“ (C35.0), „Bösartige Neubildung: Nebennierenmark“ (C74.1) und „Neubildung unsicheren oder unbekannten Verhaltens: Glomus aorticum und sonstige Paraganglien“ (D44.7) verwendet. Die Suche erbrachte eine Zahl von 200 Patienten mit den oben genannten Diagnosen. Die Ergebnisse aus der Datenerhebung der elektronischen Krankenakten der 200 Patienten erbrachten eine Zahl von 46 Patienten mit der Diagnose Phäochromozytom oder Paragangliom. Alle 46 Patienten wurden im Januar 2007 angeschrieben und gebeten, an unserer Studie teilzunehmen. Anschließend erfolgte eine telefonische Rekrutierung von Mitte Januar bis Mitte Februar 2007. Wegen falscher oder keiner Angabe der Patiententelefonnummer im Patientenverwaltungssystem „Orbis“ konnten von den 46 Patienten acht Patienten telefonisch nicht erreicht werden. Weitere fünf Patienten konnten aus anderen Gründen trotz mehrfacher Versuche ebenfalls telefonisch nicht erreicht werden. Drei Patienten seien zum Zeitpunkt der telefonischen Rekrutierungskampagne verstorben. Acht Patienten waren an der Studie nicht interessiert, weil sie bereits bei Diagnosestellung molekulargenetisch untersucht worden waren, eine erneute Untersuchung durch uns war dann nicht mehr erwünscht. Nach Abschluss der telefonischen und schriftlichen Rekrutierung blieben dann 26 Patienten mit Phäochromozytom oder Paragangliom in der Anamnese, die an unserer Studie teilnehmen wollten. Einige der 26 Patienten waren verwandt, so dass effektiv 20 Indexpatienten zunächst molekulargenetisch untersucht wurden. Seit 2007 wurden im Verlauf weitere 5 mit Phäochromozytom oder Paragangliom neu diagnostizierte Indexpatienten in die Studie eingeschlossen. Zusätzlich zu den insgesamt 25 Indexpatienten wurden weitere 26 Personen im Rahmen des Familienscreenings molekulargenetisch untersucht. Auch eine Person mit C-Zell-Karzinom wurde molekulargenetisch untersucht.

Die vorhandenen Patientenakten und Informationen wurden gesammelt und im Detail ausgewertet. Für alle Patienten wurde ein Fragebogen mit den folgenden Fragen / Punkten erstellt:

1. Allgemeine Patientendaten (Fallnummer, Geburtsjahr, Geschlecht, Jahr der Operation)
2. Detaillierte Anamnese, Symptomatik und klinischer Untersuchungsbefund
3. Familienanamnese zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
4. Ergebnisse der präoperativ durchgeführten Diagnostik
 - a) Katecholaminbestimmung im 24h-Urin und / oder im Plasma
 - b) Bildgebende Befunde: Computertomogramm des Abdomens
 Kernspintomogramm des Abdomens
 MIBG-Szintigraphie
 DOPA-PET
 Endosonographie
5. Therapie
6. Nachsorge
7. Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung
8. Stammbaumanalyse nach den Ergebnissen der molekulargenetischen Untersuchung

Im Detail wurden die Hormonuntersuchungen, die sonographische incl. endosonographische Diagnostik, die radiologischen Serienschnittverfahrensergebnisse MRT und CT und die nuklearmedizinischen Untersuchungen überprüft und systematisch zusammengestellt. Bei jedem Patienten wurde lediglich eine Serie von Ergebnissen der Katecholamine-Bestimmung im Urin ausgesucht und angemerkt, und zwar die Serie mit den relevantesten Ergebnissen bzw. mit der höchsten Katecholaminausscheidung. Bei Bedarf erfolgte eine Umrechnung der Katecholamin-Einheiten von nmol/d auf µg/d nach den folgenden Formeln:

$$\text{Adrenalin:} \quad \frac{x \text{ nmol} / d}{5,46} = y \text{ µg} / d$$

$$\text{Noradrenalin:} \quad \frac{x \text{ nmol} / d}{5,91} = y \text{ µg} / d$$

$$\text{Dopamin:} \quad \frac{x \text{ nmol} / d}{6,54} = y \text{ µg} / d$$

$$\text{Metanephrin:} \quad x \text{ nmol} / d \times 0,196 = y \text{ µg} / d$$

$$\text{Normetanephrin:} \quad x \text{ nmol} / d \times 0,185 = y \text{ µg} / d$$

$$\text{VMA:} \quad x \text{ µmol} / d \times 0,198 = y \text{ mg} / d$$

2.2 Methoden

Von allen Patienten wurde ein schriftliches Einverständnis entsprechend der aus der Universität Freiburg, Sektion Präventive Medizin (Leiter Prof. Dr. med. Dr. h. c. Hartmut Neumann) zur Verfügung gestellten und von der Freiburger Ethikkommission mit einem positiven Votum beschiedenen Patienteninformationen zur molekulargenetischen Testung bei Phäochromozytomen, Paragangliomen und Glomustumoren gegeben. Es wurden 10 ml EDTA Blut abgenommen. Die molekulargenetischen Untersuchungen wurden in Freiburg durchgeführt. Ziel war die Untersuchung des *RET*-Gens mit den Exons 10, 11, 13-16 sowie der Gene *VHL*, *SDHB* und *SDHD* mit allen Exons.

Aus der EDTA-Probe erfolgte zunächst die DNA-Extraktion. Einzelne spezifische DNA-Abschnitte wurden dann mittels PCR vervielfältigt. Mittels Agarose-Gelelektrophorese wurden die Ergebnisse der erfolgten Amplifikation kontrolliert. Zur Mutationsdetektion wurden SSCP (Single-Strand-Conformation-Polymorphism) und DHPLC (Denaturing High-Performance Liquid Chromatography) Analyse angewendet. Sobald eine Mutation durch eine der zwei Methoden nachgewiesen wurde, erfolgte anschließend eine Sequenzierung zur Bestätigung des pathologischen Befundes. Für *VHL*, *SDHB* und *SDHD* wurde auch eine Analyse für große Deletionen / Rearrangement mittels MLPA (Multiplex-Ligation-dependent Probe Amplification) Methode durchgeführt. Alle positiven Tests (Mutationsnachweise) wurden anhand einer 2. Blutprobe bestätigt. Bei der Testung von asymptomatischen Verwandten erfolgte vorher eine humangenetische Beratung.

2.2.1 DNA-Extraktion aus EDTA-Blut

Die DNA aus peripheren Blutleukozyten wurde mittels Extraktion durch Säulen von Qiagen gewonnen [Scherczinger *et al.* 1997]. Das „QIAamp DNA isolation blood kit“ beinhaltet verschiedene Puffer-Lösungen und eine Extraktionssäule. In ein 50 ml Falcon-Tube werden 5 ml EDTA antikoaguliertes Vollblut zu 5 ml eiskaltem Puffer C1 und 15 ml eiskaltem ddH₂O gegeben und durch Wenden des Falcons vorsichtig gemischt bis die Lösung durchsichtig wird. Anschließend wird das Gemisch für 10 Minuten auf Eis inkubiert. Die Lyse der Zellen erfolgt durch den Puffer C1, der Nukleus bleibt jedoch intakt. Das Lysat wird für 15 Minuten bei 4°C und 2500 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen. Das durch residuelles Hämoglobin rötlich gefärbte Pellet wird mit 1 ml eiskaltem Puffer C1 und 3 ml eiskaltem ddH₂O resuspendiert und erneut für 15 Minuten bei 4°C und 2500 U/min zentrifugiert. Hierdurch werden Zelltrümmer und restliches Hämoglobin entfernt, und das Pellet wird weiß. Die Resuspension des weißen

Pellets erfolgt durch Vortexen mit 5 ml Puffer G2 für 30 Sekunden bei maximaler Geschwindigkeit. Im Anschluß werden 95 µl Proteinase K-Lösung zugefügt und das Ganze bei 50°C für 30 bis 60 Minuten inkubiert. Der Puffer G2 bewirkt eine Lyse des Nukleus und eine Denaturierung von Proteinen, welche durch die Proteinase in kleinere Fragmente verdaut werden. Die Lösung sollte dabei klar werden, damit die mit Puffer QBT äquilibrierte Säule, auf die sie gegeben wird, nicht verstopft. Nachdem die Lösung die Säule passiert hat, werden 2 mal 7,5 ml Wasch-Puffer QC hinzugegeben. Durch 5 ml Eluierungs-Puffer wird die DNA von der Säule gelöst und mittels 3,5 ml Isopropanol präzipitiert. Die DNA-Fäden können mit einer Pipettenspitze gefangen und in Tris-Borat-EDTA (TBE) gelöst werden.

2.2.2 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Einzelne spezifische DNA-Abschnitte können mittels PCR vervielfältigt werden. In mehreren Zyklen werden DNA-Einzelstrangabschnitte durch eine thermostabile DNA-Polymerase repliziert [Saiki *et al.* 1985]. Vor Beginn des ersten Zyklus erfolgt eine verlängerte Denaturierungsphase durch 10-minütiges Erhitzen auf 95°C. Jeder Zyklus besteht aus drei Teilschritten. Der erste der drei Teilschritte trennt nach jedem Zyklus die doppelsträngig vorliegende DNA in zwei Einzelstränge. Dies geschieht durch 30-sekundiges Erhitzen auf 95°C. Im zweiten Schritt folgt die Hybridisierung von zwei Primern mit den DNA-Einzelsträngen, diese Phase wird auch „primer annealing“ genannt. Jedes Primerpaar hat eine spezifische Annealing-Temperatur, die eine optimale Anlagerung der Primer an die DNA erlaubt. Der zu replizierende DNA-Abschnitt wird jeweils durch zwei unterschiedliche am 3' Ende zum Strang und Gegenstrang komplementäre Primer-Oligonukleotide flankiert. Die kurzen Doppelstrangabschnitte, die von den Einzelsträngen und den daran gebundenen Primern beim Annealing gebildet werden, dienen als Ausgangspunkt für die Replikation durch die thermostabile Taq-Polymerase. Dies geschieht im dritten Teilschritt bei einer vom Arbeitsoptimum der verwendeten DNA-Polymerase abhängigen Temperatur (68 - 72°C). Die Replikation des zwischen den beiden Primern vorliegenden DNA-Abschnittes erfolgt bei jedem Zyklus genau so oft, wie Strang und Gegenstrang vorliegen. Durch die Thermostabilität der Taq-Polymerase können mehr als 30 Zyklen ohne erneuten Enzymzusatz durchgeführt werden. Nach dem 30. Zyklus wird eine letzte Synthesephase von 10 Minuten bei 72°C durchgeführt, um möglichst vollständige Syntheseprodukte zu erhalten. In Abbildung 2.1 wird das Prinzip der PCR dargestellt.

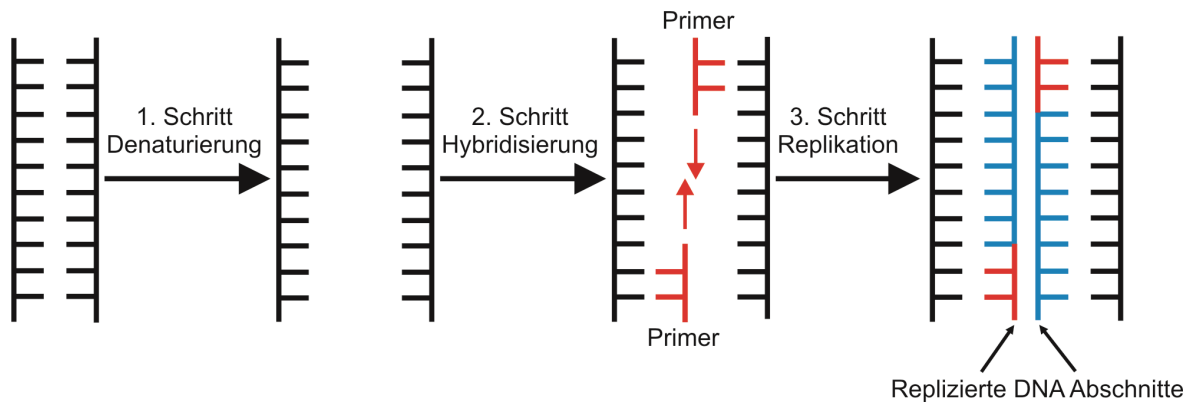


Abbildung 2.1: Prinzip der PCR. In mehreren aus jeweils 3 Schritten bestehenden Zyklen werden DNA-Einzelstrangabschnitte durch eine thermostabile DNA-Polymerase repliziert.

Die Reaktionen werden in 0,2 ml oder 0,5 ml Eppendorf-Tubes angesetzt. Ausreichend sind 10 µl Ansätze mit folgender Zusammensetzung:

- 5 µl dd H₂O
- 1 µl 10 x PCR-Puffer (MgCl₂-Konzentration je Primer variierend)
- 1 µl 10x dNTP-Mix
- 1 µl Forward-Primer (20 pmol)
- 1 µl Reverse-Primer (20 pmol)
- 1 µl DNA-Verdünnung (10 bis 30 ng DNA)
- 0,2 µl Taq-Polymerase (entsprechend 2 Units)

Die PCR-Bedingungen, wie MgCl₂-Konzentration des Puffers und Annealing-Temperatur, sind für jedes Primer-Paar spezifisch und müssen im Vorfeld experimentell ermittelt werden. Die Annealing-Temperatur lässt sich theoretisch nach dem Gehalt der Oligonukleotide an G/C und A/T Basenpaaren berechnen und wird von den Oligonukleotid-Herstellern angegeben. Abweichungen sind oft zu beobachten.

2.2.3 Agarose-Gelelektrophorese

Die Agarose-Gelelektrophorese ist eine molekularbiologische Methode, um Nukleinsäure-Stränge (RNA oder DNA) nach ihrer Größe zu trennen und um ihre Größe durch Vergleich mit Strängen bekannter Größe zu bestimmen. Lange Fäden aus Agarosepolymeren werden zu einem Gel vernetzt. Je höher die Agarose konzentriert ist, desto kleiner sind die Poren, die sich in dem Gel befinden. Die Gelelektrophorese funktioniert somit wie ein Sieb für Moleküle. Ein elektrisches Feld wird verwendet, um die negativ geladenen Nukleinsäure-Moleküle durch die Gelmatrix zu ziehen, wobei die kleineren Moleküle sich schneller durch das Gel bewegen können und somit eine Auftrennung der Stränge nach ihrer Größe ermöglicht wird. Die Agarose-Gelelektrophorese dient in unserer Studie zum einen der

Kontrolle von erfolgter Amplifikation, zum anderen zur Bestimmung der Größe der Amplifikationsprodukte der Polymerasekettenreaktion.

Bei der Herstellung wird Agarose in TBE-Puffer (Tris-Borat-EDTA) gelöst und aufgeköcht. Nach Abkühlung wird die noch flüssige Gelmasse in ein Geltablett gegossen. Das Geltablett wird mit Kämmen bestückt, um die Ladetaschen im Gel zu bilden. Die DNA-Proben werden vor dem Auftrag auf das Gel mit Agarosegel-Ladepuffer versetzt. Das Füllen der Taschen erfolgt nach dem Einlegen des Gels in die mit TBE gefüllte horizontale Elektrophoresekammer. Zum Abschätzen der Länge und Konzentration der Nukleinsäuren, wird ebenso ein DNA-Längenstandard aufgetragen. Der Längenstandard beinhaltet eine definierte Menge und definierte Größen von DNA. Die Auftrennungszeit beträgt im Schnitt 30 Minuten bei ca. 100 Volt. Dabei werden die Fragmente im elektrischen Feld entsprechend Größe und Ladung aufgetrennt. Durch Färben des Gels mittels einer Lösung, die fluoreszierendes Ethidiumbromid enthält, können die Fragmente unter UV-Licht der Wellenlänge 366 nm sichtbar gemacht, mit einer Polaroid-Kamera fotografiert und dokumentiert bzw. mit dem Alpha-Imager eingelesen und bearbeitet werden. Kleinere Unterschiede in den DNA-Fragmenten wie Punktmutationen oder kleine Deletionen können mittels Gelelektrophorese nicht erkannt werden.

2.2.4 Single-Strand-Conformation-Polymorphism Analyse (SSCP)

Die Mutationsdetektion durch Analyse von SSCP-Bandenmustern wurde zum ersten Mal von Orita *et al.* im Jahr 1989 beschrieben. Die SSCP-Analyse basiert sich auf das Verhalten einzelsträngiger DNA durch die starke Neigung zur Basenpaarung verschiedene Sekundärstrukturen (Konformationen) anzunehmen, welche die Laufeigenschaften des Fragments in der Gelelektrophorese beeinflussen. Bei Konformationsänderung der einzelsträngigen DNA, z.B. durch eine Veränderung der Basensequenz, kommt es unter optimalen Bedingungen zu einem veränderten Laufverhalten in der Gelelektrophorese. Mittels SSCP-Analyse ist es somit möglich, Allel-spezifische Sequenzunterschiede bis hin zu Punktmutationen zu detektieren und vom Wildtyp zu unterscheiden. Aberrierende Banden zeigen Polymorphismen oder krankheitsverursachende Mutationen an [Ainsworth *et al.* 1991]. Die Methode weist eine allgemeine Sensitivität von 60-85% auf [Ainsworth *et al.* 1991, Hayashi *et al.* 1993, Sheffield *et al.* 1993]. Die Wahrscheinlichkeit eine Sequenzabweichung zu detektieren nimmt jedoch mit der Länge des zu untersuchenden Fragments stark ab, so dass der Einsatz der SSCP-Analyse auf Fragmente mit einer maximalen Länge von 200-300 Basenpaaren begrenzt ist.

Zur SSCP-Analyse werden jeweils 4 µl des amplifizierten Fragments verwendet, mit 6 µl SSCP-Ladepuffer vermischt und 3 Minuten bei 95°C in einem Heizblock denaturiert, um Einzelstränge zu erhalten. Damit die Einzelstränge nicht rehybridisieren, wird die Probe anschließend in Eiswasser abgeschreckt. Jede Probe wird in eine Tasche eines Polyacrylamid-Gels geladen. Zur Herstellung eines Acrylamidgels müssen zwei Glasplatten sehr gründlich gereinigt und mehrmals mit Alkohol abgerieben werden, um rückstandsfreie Platten zu erhalten. Anschließend wird eine der beiden Platten mit Acrylease behandelt, um sie nach dem Lauf ohne Beschädigung vom Gel lösen zu können. Die Platten werden horizontal auf einen Arbeitstisch gelegt und auf der Längsseite zwei Spacer (0,35 mm) zwischen die Platten gelegt, die die Geldicke bestimmen. Die untere kurze Seite und die unteren Teile der langen Seiten werden mit einem gut abdichtenden Klebeband verschlossen. Die langen Seiten mit den Spacern werden mit Klammern zusätzlich verspannt. Jetzt kann die fertig angesetzte MDE-Gellösung, deren Polymerisation unmittelbar zuvor mittels TEMED und APS gestartet wurde, in die oben offene, schräg gehaltene Glaskonstruktion vorsichtig, gleichmäßig und vor allem luftblasenfrei eingegossen werden. Bei Erreichen des oberen Randes wird ein Taschenkamm zwischen die beiden Glasplatten gesteckt und ebenfalls mit Spannklemmen befestigt. Nach ca. einer Stunde ist das Gel vollständig auspolymerisiert und der Kamm kann vorsichtig entfernt werden. Das Gel wird in eine vertikale Gelkammer eingespannt. Die Dichtungen der Kammer werden mit Silikonpaste versehen und beide Kammern mit 0,6 x TBE gefüllt. Die Geltaschen werden mit einer Pipette gespült. Durch einen einstündigen Vorlauf des Gels ohne Proben werden Verunreinigungen minimiert.

Nachdem die Elektrophorese abgeschlossen ist, wird vorsichtig die zuvor mit Acrylease behandelte Glasplatte abgehoben. Das Gel verbleibt auf der unbehandelten Glasplatte und wird in einen speziellen Färberahmen eingespannt, der das Aufbringen und Abkippen der verschiedenen Färbelösungen erleichtert [Bender *et al.* 1994]. Die Färbung des Gels wird mit einer 1%-igen Salpetersäurelösung begonnen, die die DNA-Fragmente im Gel fixiert. Nach 3 Minuten wird die Lösung abgekippt und dreimal mit ddH₂O gründlich gespült. Daraufhin erfolgt das eigentliche Anfärben der Fragmente für mindestens 20 Minuten mit einer 12 mM Silbernitratlösung, die in einer lichtgeschützten Flasche aufbewahrt wird. Nach Abkippen der Silbernitratlösung erfolgt nochmals ein dreimaliges Spülen mit ddH₂O. Nun müssen die an die DNA-Fragmente gebundenen Silberionen durch Reduktion zu metallischem Silber sichtbar gemacht werden. Dies erfolgt mittels einer Formaldehydlösung. Nach dem ersten Aufbringen der Reduktionslösung wird diese sofort

wieder abgekippt und neue Lösung zugegeben. Dieser Vorgang wird gegebenenfalls bei zu starker Verfärbung der Reduktionslösung wiederholt. Sind die Banden gut sichtbar geworden, wird die Reduktionslösung verworfen und wieder dreimal mit ddH₂O gespült und die Färbereaktion mit einer 10%-igen Essigsäurelösung gestoppt [Budowle *et al.* 1991]. Jetzt wird der Färberahmen entfernt und auf das noch feuchte Gel wird ein Filterpapier (Schleicher und Schuell, Nr. 2316) gepresst und samt Gel von der zweiten Glasplatte entfernt. Das Gel wird anschließend für ca. eine Stunde auf einem Gelrockner bei 80°C unter Vakuum getrocknet. In Abbildung 2.2 wird ein Beispiel eines SSCP-Befundes gezeigt.

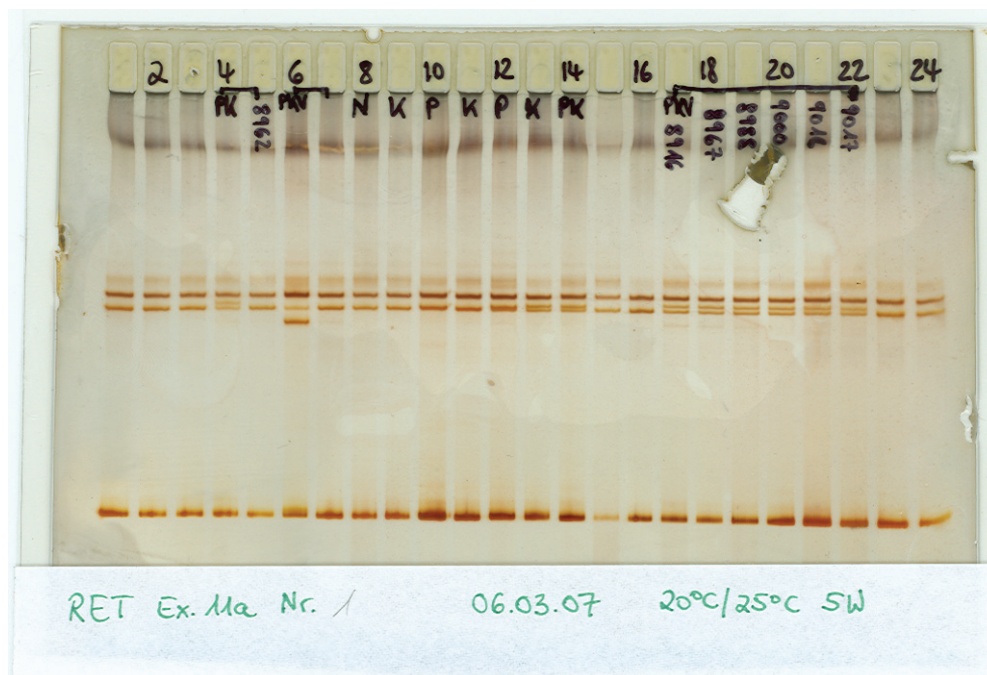


Abbildung 2.2: Beispiel eines SSCP-Befundes. Untersucht wurde das Exon 11 des *RET*-Gens. In den Spalten 4, 6 sowie 8 bis 14 sind Kontrollproben. In den Spalten 7 sowie 17 bis 22 sind Proben von Patienten. Einen pathologischen Befund im Sinne einer Mutation des Exon 11 weisen die Proben mit Doppelbändern in den Spalten 17 bis 22 auf.

2.2.5 Denaturing High-Performance Liquid Chromatography Analyse (DHPLC)

Die DHPLC-Analyse wurde erstmals 1995 von Oefner und Underhill [Budowle *et al.* 1991, Oefner *et al.* 1995] als ein Verfahren zur Mutationsdetektion beschrieben. Die Methode basiert auf der unterschiedlichen Migrationsgeschwindigkeit von DNA-Homo- und Heteroduplices bei der Passage durch die Matrix einer Trennsäule. Dazu wurde in unserer Studie das WAVE® Nucleic Acid Fragment Analysis System (WAVE-System) von Transgenomic eingesetzt.

Durch Erhitzen der PCR-Amplikons auf 95°C (Denaturierung) und langsames Abkühlen auf Raumtemperatur lagern sich die entstandenen Einzelstränge wieder zu Doppelsträngen

zusammen. Trägt eines der beiden Fragmente eine Mutation, d.h. weichen die Sequenzen an einer bestimmten Stelle voneinander ab, so bilden sich Heteroduplices mit Basenpaarungen außerhalb des Watson-Crick-Systems, wie z.B. G-T und A-C. In gleicher Menge entstehen Homoduplices, bei welchen die gegenüberliegenden Basen komplementär sind (Abbildung 2.3). Die entstandenen Heteroduplices können nun aufgrund der veränderten physikalischen Eigenschaften der Doppelstrang-DNA mit Hilfe einer hochauflösenden Polymermatrix von den Homoduplices getrennt werden. Dies geschieht mittels Ionenpaar-Umkehrphasen-Chromatographie. Dafür werden eine stationäre Phase mit alkylierten, hydrophoben Polystyren-Divinylbenzol sowie eine mobile Phase mit amphiphilen TEAA (Triethylammoniumacetat)-Molekülen mit Brückenfunktion benötigt. Die DNA-Moleküle werden an die Säule gebunden, indem sich hydrophobe Ammonium-Kationen des Triethylammoniumacetats (TEAA) im Laufpuffer an die negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA anlagern und die Alkylgruppen des TEAA an die Oberfläche der Polymermatrix binden. Danach werden die DNA-Fragmente über Ionenpaar-Umkehrphasen-Chromatographie freigegeben, wobei die DNA-Fragmente mittels einer kontinuierlich steigenden Acetonitril-Konzentration von der Polymermatrix eluiert werden.

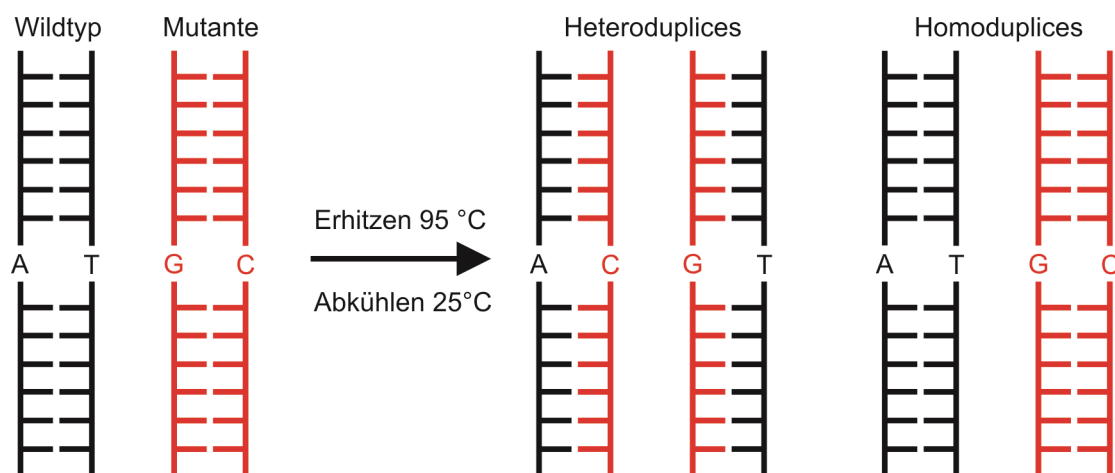


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips einer DHPLC Analyse.

Aufgrund minimaler struktureller Unterschiede in ihren Migrationsgeschwindigkeiten eluieren die thermolabileren Heteroduplices vor den Homoduplices, allerdings bei einer für das jeweilige Fragment optimalen Analysetemperatur. Ein UV-Detektor registriert die abgewaschenen DNA-Fragmente bei einer Wellenlänge von 254 nm, die Auswertung erfolgt computergestützt in einem Absorptions-Zeit-Chromatogramm. So entsteht ein Elutionsprofil mit bis zu vier Elutionspeaks, entsprechend der vier möglichen DNA-Duplices (Wildtyp / Wildtyp, Wildtyp / Mutante (*sense*), Mutante (*antisense*) / Wildtyp, Mutante / Mutante). Liegen die Migrationsgeschwindigkeiten jedoch aufgrund struktureller

Besonderheiten der Hetero- bzw. Homoduplices nahe beieinander, so können die einzelnen Peakflächen miteinander verschmelzen, so dass weniger als vier Peaks im Elutionsprofil auftreten. Im Minimalfall zeigt eine Mutation nur einen Peak mit einer „Schulter“. Die Art und Weise, wie sich Heteroduplex-Peaks im Chromatogramm darstellen, wird vor allem durch die Schmelzeigenschaften der dem Mismatch benachbarten Basen beeinflusst [Ke *et al.* 1993]. Bei homozygoten Anlageträgern bilden sich keine Heteroduplices, es entstehen vier identische Homoduplices, so dass ein homogener Peak im Chromatogramm resultiert. Durch Zugabe von amplifizierter Wildtyp-DNA in gleichen Teilen lässt sich die Mutation jedoch darstellen [Huber *et al.* 1993]. Durch computerisierte Bearbeitung der entstandenen Chromatogramme können die Proben mit Kontrollproben oder mit dem Indexpatienten verglichen werden. In der Abbildung 2.4 wird ein Beispiel eines DHLPC-Befundes gezeigt.

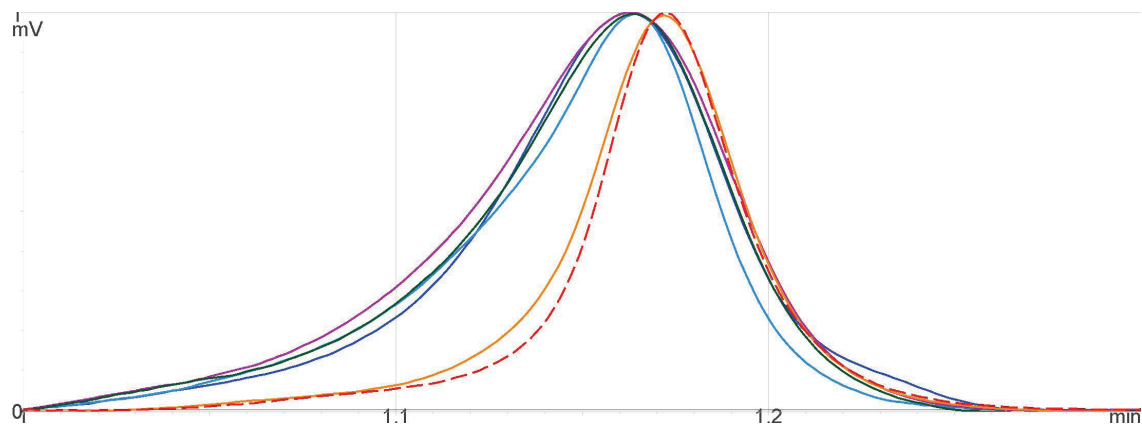


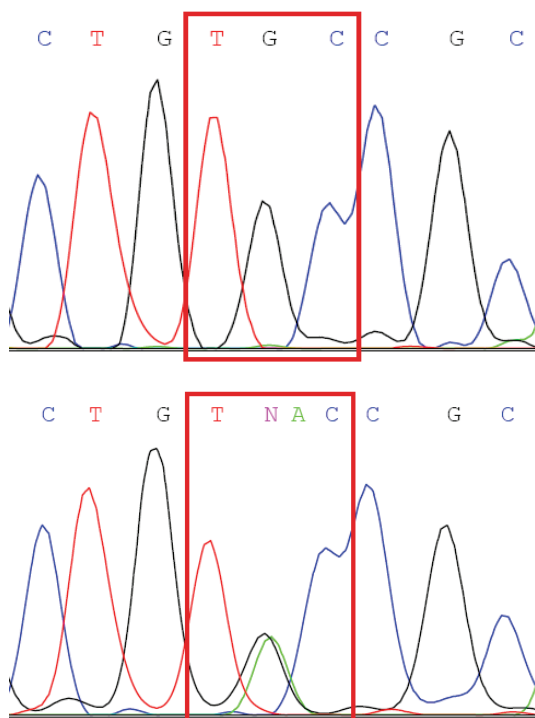
Abbildung 2.4: Beispiel eines DHLPC-Befundes. Untersucht wurde eine Familie mit MEN 2A Syndrom. Die rote gestrichelte Linie repräsentiert die gesunde Kontrollprobe, während die grüne Kurve die pathologische Kontrollprobe mit der Mutation *RET* Codon 634 TGC>TAC repräsentiert. Man sieht, wie die lila Kurve (Indexpatient), die hell blaue Kurve (Vater des Indexpatienten) und die dunkle blaue Kurve (Bruder des Patienten) einen gleichen Verlauf wie die pathologische Kontrollprobe aufweisen. Die orange Kurve repräsentiert die Probe der Schwester des Indexpatienten, die der gesunden Kontrollprobe ähnelt und somit keine Mutation aufweist.

Für die DHLPC-Analyse werden die PCR-Produkte bei 95°C für 20 Minuten denaturiert und zur Bildung der DNA-Duplices schrittweise (1°C/min) auf 65°C abgekühlt. Die spezifischen Schmelztemperaturen wurden mittels der Navigator™-Software ermittelt. Zur Ermittlung der optimalen Analysetemperatur wurden die Amplifikate um das von der Navigator™-Software berechnete Temperaturoptimum mit mindestens 3 verschiedenen Temperaturen analysiert, meist 2°C unter und über der vorgeschlagenen Temperatur. Es wurden 5 µl PCR-Produkt auf die DNA Sep®Column Trennsäule injiziert und mit einem linearen Acetonitril-Gradienten aus Puffer A (0,1 M TEAA, pH 7,0) und Puffer B (0,1 M TEAA, 25% Acetonitril, 0,1 mM EDTA) eluiert. Die Durchflussrate des Elutionspuffers durch die Säule lag konstant bei 1,5 ml/min. Die Gesamtanalysezeit betrug 2,5 Minuten.

2.2.6 Sequenzierung

Die in der DHPLC- und/oder SSCP-Analyse auffälligen Proben wurden zum Sequenzieren in das Labor der Core Facility (Leiter: Dr. Hoffmann) der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg geschickt. Das Ziel der Untersuchung ist die vorhandene Mutation zu verifizieren und ihre genaue Position zu bestimmen.

Die Sequenzierung nach Sanger *et al.* von 1977 beruht auf dem Einbau markierter Dideoxynukleotide in den neu synthetisierten DNA-Strang, was zu einem Kettenabbruch führt. Im Gegensatz zur radioaktiven Sequenzierung werden heute meist vier, verschiedenfarbig fluoreszenz-markierte Dideoxynukleotide verwendet [Prober *et al.* 1987]. Die Synthese der zu sequenzierenden DNA erfolgt durch thermostabile Taq-Polymerasen. Dadurch entstehen Produkte unterschiedlicher Kettenlänge, die durch Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt und durch Fluorographie sichtbar gemacht werden. Mittels eines halbautomatischen Sequenzierers und einer computergestützten Auswertung der Rohdaten entsteht ein farbiges Diagramm. Anhand der unterschiedlichen Farben der Kurven lassen sich die verschiedenen Nukleotide und ihre Basensequenz ablesen. Die Abbildung 2.5 zeigt ein Beispiel eines Sequenzierung-Befundes.



Kein Nachweis einer *RET*-Mutation im Exon 11 auf dem Codon 634:

normale Nukleotidensequenz TGC

Nachweis einer *RET*-Mutation im Exon 11 auf dem Codon 634:

anormale Nukleotidensequenz TAC
statt TGC

Abbildung 2.5: Beispiel einer Sequenzierung. Die verschiedenen Farben entsprechen den vier bekannten Nukleotiden T, A, C und G, die oberhalb der Peaks auch angemerkt sind. Der Patient mit der *RET*-Mutation weist in der Sequenzierung an der Stelle des Codons 634 die Basensequenz TAC statt die erwartete TGC Basensequenz auf.

2.2.7 Multiplex-Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)

Die im Jahr 2002 erstmals beschriebene MLPA-Methode ist ein Verfahren, das es ermöglicht, vollständige Deletionen eines Gens oder Deletionen einzelner Exons nachzuweisen [Schouten *et al.* 2002]. Bis zu 50 Nukleinsäurefragmenten könnten in einem Ansatz dargestellt werden. Das Verfahren beruht auf der Hybridisierung und Ligation von sequenzspezifischen Sonden mit genomischer DNA, gefolgt von einer Amplifikation der hybridisierten Sonden. Wenn die Zielsequenz im Fall einer Deletion fehlt, kann auch die Ligation nicht stattfinden und das Fragment wird nicht amplifiziert. Man findet dann in der resultierten Elektropherogramm eine Reduktion der Peakfläche gegenüber der Kontrolle.

2.2.8 Erhebung der klinischen Daten

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung lagen die Diagnosestellung und die Therapie der meisten Patienten mehrere Jahre zurück. Die im Archiv aufbewahrten älteren Krankenakte wurden retrospektiv untersucht. Von Bedeutung waren vor allem die Befunde der laborchemischen und bildgebenden Untersuchungen sowie die Operationsberichte und die Ergebnisse der histologischen Analyse. Bei unvollständigen Krankenakten bzw. fehlenden auswärtigen Befunden wurden die eigenen Kopien der gewünschten Befunde direkt von den Patienten angefordert. In einzelnen Fällen mussten die notwendigen Unterlagen direkt von den auswärtigen Kliniken bestellt werden. Auch MRT- und CT-Bilder wurden in bestimmten Fällen von den auswärtigen Radiologie-Zentren und -Praxen angefordert.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenfallbeschreibungen

Fallnummer 1:

Initialen:	A.E.	Geburtsjahr:	1942
Geschlecht:	weiblich	Jahr der Bestrahlung:	2004

Anamnese:

Die Patientin stellte sich im August 2004 zur Abklärung eines seit ca. 6 Monaten rezidivierend auftretenden Ohrgeräusches mit Hypakusis links sowie eines seit ca. 2 Wochen bestehenden Schwindels mit Kopfschmerzen vor. Die klinische Untersuchung erbrachte ebenfalls eine Gangunsicherheit und leichte Dysphasie.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Felsenbein-CT: Raumfordernde rundliche Struktur im linken Felsenbein (Größe ca. 4 x 4 cm in der maximalen Ausdehnung). Ausgedehnte Destruktion des Felsenbeins links, auch ins Hypo- und Epithympanon, intracerebral auch der Schädelbasis, keine knöcherne Abgrenzung zur V. jugularis. Knöcherne Destruktion der Keilbeinhöhle.

Transfemorale Katheter-Angiographie: Nachweis eines riesigen typischen Glomus jugulare-Tumors.

Katecholamine-Bestimmung:

Normwertige Katecholamine sowohl im Serum als auch im 24-Stunden-Sammelurin.

Therapie:

2005: Definitive, kurative, fraktionierte, stereotaktische Hochpräzisionsradiatio bis zu einer GHD von 59,4 Gy, EHD 1,8 Gy/die

Verlauf:

Nach der Radiatio kam es zu einer deutlichen Rückbildung der neurologischen Symptomatik. Die regelmäßig durchgeführten MRT-Untersuchungen zeigten den Glomustumor in unveränderter Form und Größe.

Molekulargenetische Untersuchung:

SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHC	Exon 1-6:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde

Diagnose:

Histologisch nicht gesichertes Glomus jugulare links, ca. 4 x 4 cm groß

Fallnummer 2:**Initialen:** S.A.**Geburtsjahr:** 1959**Geschlecht:** männlich**Jahr der ersten Operation:** 1992**Anamnese:**

Im Jahr 1992 erfolgte die Exzision eines unklaren nuchalen Tumors, mit dem histologischen Befund eines malignen anaplastischen Tumors. Der Patient bemerkte damals eine Anschwellung im Bereich der rechten Halsseite. Beim zweiten Rezidiv im Jahr 1997 wurde histologisch die Diagnose eines malignen Paraganglioms geäußert. Eine pathologische Referenzuntersuchung bestätigte die Diagnose eines malignen Paraganglioms.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:**CT und MRT:**

Multiple CT- und MRT-Untersuchungen wurden als Verlaufskontrolle durchgeführt.



Abbildung 3.1: CT Befund von 2009. Der Pfeil zeigt auf eine Lymphknotenmetastase des zervikalen Paraganglioms am rechten Lungenhilus.

MIBG- und SMS-Szintigraphie:

Multiple über die Jahre durchgeführte MIBG- und SMS-Szintigraphien erbrachten einen negativen Befund. Eine MIBG- oder SMS-Therapie kam somit auch nicht in Frage.

Katecholamine-Bestimmung:

Gelegentlich durchgeführte Bestimmungen der Katecholamine erbrachten keine relevante Erhöhung der Katecholamine im Urin, der Tumor wies somit keine relevante hormonelle Aktivität auf. Chromogranin A lag auch im Normbereich.

Therapie:

- 1992: Erstmalige Exzision des nuchalen Tumors
 - Histologie: Maligner anaplastischer Tumor
- 1992: Postoperative Radiatio mit 39 Gy

- 1995: Rezidiv-OP rechts zervikal
- Histologie: Anaplastisches Karzinom
- 1997: Rezidiv-OP rechts zervikal
- Histologie: Verdacht auf neuroektodermalen Tumor zervikal rechts, z.B. Paragangliom
- 1999: Lymphknotenexstirpation rechts zervikal
- Histologie: Lymphknotenexzistat mit Anteilen eines soliden wachsenden malignen undifferenzierten Tumors. Neben einem undifferenzierten Karzinom sollte auch die Möglichkeit eines Keimzellkarzinoms mitberücksichtigt werden.
- 2001: Rezidiv-OP mit kranio- und mediojugulärerer Lymphknoten-Ausräumung rechts
- Histologie: Lymphknotenmetastase des bekannten malignen Paraganglioms.
- 2003: Rezidiv-OP rechts zervikal
- Histologie: Rezidiv des bekannten malignen Paraganglioms am rechten Hals, Blutgefäßeinbrüche
- 2004: Rezidiv-OP rechts zervikal
- Histologie: Rezidiv des klinisch bekannten malignen Paraganglioms.
- 2005: Atypische thorakoskopische Lungenteilresektion des rechten Lungenmittellappens bei Lungenmetastase
- Histologie: Lungenmetastase des Paraganglioms bis an die Resektionskante heranreichend.
- 2005: Resektion eines Tumors im Bereich des rechten Kieferwinkels
- Histologie: Rezidiv des klinisch bek. malignen Paraganglioms.
- 2006: Atypische Lungenteilresektion und Lymphknotenexstirpation rechts hilär
- Histologie: Lymphknotenmetastase des klinisch bekannten Paraganglioms am rechten Lungenhilus
- 2006: Rezidiv-OP Level II-III rechts zervikal
- Histologie: Rezidiv des klinisch bekannten malignen Paraganglioms
- 2006: Mittellappenresektion und radikale Lymphadenektomie rechts
- Histologie: Metastasen im rechten Lungenmittellappen des klinisch bekannten Paraganglioms, eine Metastase und peribronchiale Lymphknotenmetastase randbildend an der bronchialen Absetzungskante, weitere subpleurale Lungenmetastase.
- 2009: Rezidiv-OP Level II-III rechts zervikal
- Histologie: Lymphknotenmetastase des bekannten malignen Paraganglioms, im Gesunden entfernt, Abstand zur äußeren Kante 1 mm.
- 2009: Thorakotomie und Exzision von zwei Lymphknotenmetastasen rechts
- Histologie: Lymphknotenmetastase infrakarinal und infrahilär des bekannten Paraganglioms
- 2010: Rezidiv-OP rechts zervikal Level II sowie lokale Defektdeckung mittels Bi-lobed Flap

- Histologie: Zwei bis 1 cm große Halsweichteilmetastasen (rechts zervikal Level II) des bekannten malignen Paraganglioms, jeweils im Gesunden entfernt.

Verlauf:

Initial wurde ein anaplastischer Tumor vermutet, im Verlauf stellte sich heraus, dass es sich am ehesten um ein malignes Paragangliom handelte. Im Verlauf kam es zu multiplen Rezidiven im Halsbereich und darauffolgenden Rezidiv-Operationen.

Seit 1999 wurden zwei pulmonale Rundherde im CT festgestellt, verdächtig auf Metastasen. Bei Größenkonstanz in den engmaschig durchgeführten CT-Kontrollen wurde zunächst ein abwartendes Verhalten entschieden. Im Jahr 2005 zeigte sich jedoch im CT dass die zwei Metastasen gewachsen und zu einer Metastase konfluiert waren. Es wurde daher die Indikation zur Resektion der pulmonalen Rundherde gestellt. Postoperativ zeigte sich im CT ein zentral einschmelzender Lymphknoten rechts hilär, ca. 3 cm messend. Beim Nachweis einer leichten Größenprogredienz in der kurzfristigen Kontrolle und erfolgloser Histologiegewinnung weder bronchoskopisch noch CT-gesteuert, wurde die Indikation zur operativen Sanierung des Befundes gestellt. Postoperativ zeigte sich eine weitere solitäre 11 mm große Lungenmetastase im Narbenbereich des (rechten) Mittellappens. In der im Jahr 2006 durchgeführten Mittellappenresektion und radikalen Lymphadenektomie rechts konnten multiple Metastasen nachgewiesen werden. Bei größenprogredientem infrakarinal gelegenen Lymphknoten und geringem Wachstum eines zweiten, suspekten Lymphknotens rechts infrahilär erfolgte 2009 eine Thorakotomie rechts und Entfernung der beiden vergrößerten Lymphknoten. Postoperativ kam es zu Bildung eines Pleuraempyems rechts bei konservativ behandeltem Seropneumothorax mit daraufhin erfolgter Versorgung durch Thoraxdrainagenanlage, Wunddebridement und kalkulierte Antibiotikatherapie.

Nach erneuter Rezidiv-OP im rechten Halsbereich 2010 wurde eine Lähmung des N. laryngeus superior und inferior rechts mit Stimmbandlähmung rechts festgestellt. Drei Tage postoperativ wurden bei Schmerzen hinter dem linken Auge multiple intrazerebrale Abszesse diagnostiziert, die durch Abszessdrainage entleert wurden. Nach einem schwierigen Verlauf erholte sich der Patient mit lediglich einer persistierenden Beinparese links.

Molekulargenetische Untersuchung:

SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHC	Exon 1-6:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde

Diagnose:

Rezidivierendes malignes Paragangliom rechts zervikal mit Lungenmetastasen, ED 1992

Fallnummer 3:**Initialen:** G.F.**Geburtsjahr:** 1956**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 1990**Anamnese:**

Bei der routinemäßigen Untersuchung im Rahmen der Nierentransplantationsvorbereitung bei bekannter chronischer Niereninsuffizienz am ehesten auf dem Boden einer IgA-Nephritis fiel sonographisch ein Tumor im Bereich der linken Nebennieren auf. Eine arterielle Hypertonie war vorbekannt, der Pat. befand sich bereits unter antihypertensiver Therapie.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Bereich der linken Nebenniere 7,7 x 4,7 cm betragende gut abgrenzbare echoarme Formation wie bei Nebennierentumor.

Abdominelles CT: In der linken Nebennierenregion kommt eine ovale, glatt begrenzte Raumforderung zur Darstellung mit einem Durchmesser von ca. 7 x 7 x 3,4 cm. Diese Raumforderung zeigt eine deutliche KM-Anreicherung und weist eine zentrale Hypodensität im Sinne einer Einschmelzung auf. Corpus und Cauda des Pankreas sind durch diese Raumforderung nach ventral verlagert. Es handelt es sich entweder um ein Phäochromozytom oder um eine unklare Nebenniere-Metastase.

MIBG-Szintigraphie: Deutlich vermehrte Nuklidanreicherung links craniolateral des oberen linken Nierenpols, Befund vereinbar mit einem adrenalen Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Noradrenalin im Serum mit 1418 ng/l deutlich erhöht. Adrenalin und Dopamin normwertig.*

Clonidin-Test: fehlende Suppression, mit Noradrenalin von 1165 ng/l nach 1 Std.*

* Die genauen Werte waren nicht auffindbar. Die Angaben ergaben sich aus den Arztberichten.

Therapie:

1990: Adrenalektomie links (konventionell-offen)

Verlauf:

Nach Sanierung des Phäochromozytoms erfolgte die geplante Nierentransplantation. Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 7 x 5 cm groß

Fallnummer 4:**Initialen:** G.H.P.**Geburtsjahr:** 1949**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2002**Anamnese:**

Im Rahmen einer Abklärung von Magenschmerzen fiel im CT Abdomen ein Tumor im Bereich der rechten Nebenniere auf. Eine arterielle Hypertonie war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung nicht bekannt, weitere Phäochromozytom-typische Symptome wurden vom Patienten verneint.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Großer Nebennierentumor rechts, 9 x 9 x 9,2 cm groß, caudolateral solider Anteil, überwiegend echoarm, homogenes Material, nicht rein cystisch.

Abdominelles CT: Nachweis einer ca. 9,4 x 9,0 cm großen, vorwiegend zystischen (liquiden) Raumforderung in der rechten Nebenniere mit soliden Anteilen in der Peripherie, deutlicher Kapsel ohne Umgebungsinfiltration, jedoch Kompression des Leberunterrandes und Verdrängung der rechten Niere nach caudal.

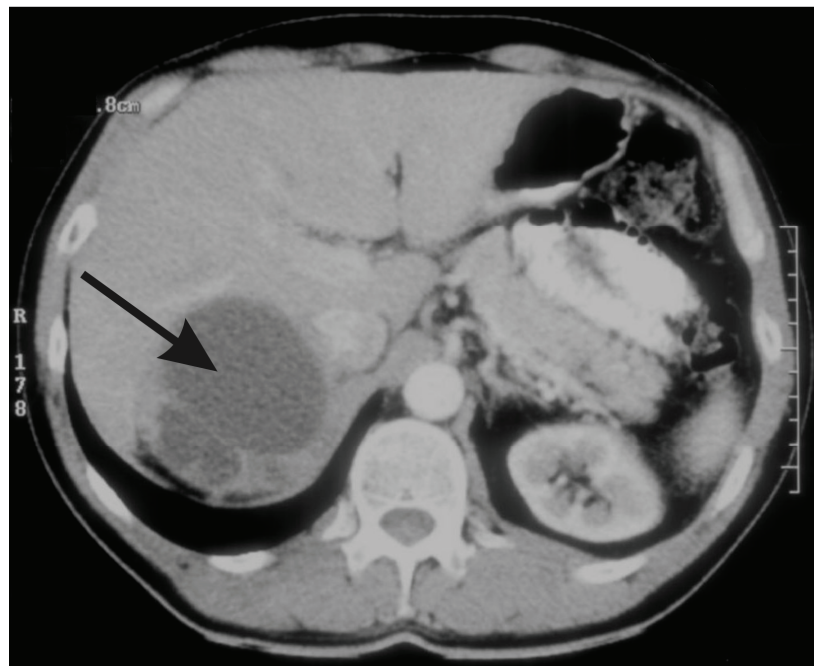


Abbildung 3.2: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das rechtsseitige Phäochromozytom.

MIBG-Szintigraphie: Großer, rundlicher, randständig MIBG-speichernder Tumor der rechten Nebennierenregion mit zentralem Speicherdefekt, höchstwahrscheinlich einem zentral nekrotischen Phäochromozytom entsprechend. Kein Nachweis MIBG-speichernder Metastasen.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	263 µg/d +	Normwert: 3 - 18 µg/d
Noradrenalin im Urin:	57 µg/d	Normwert: 15 - 80 µg/d
Dopamin im Urin:	303 µg/d	Normwert: 67 - 450 µg/d

Therapie:

2002: Adrenalektomie rechts (laparoskopisch)

- Histologie: pseudozystisch-regressiv verändertes Phäochromozytom der Nebenniere, ca. 10 x 10 x 8 cm groß

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 10 x 10 cm groß

Fallnummer 5:**Initialen:** H.G.A.**Geburtsjahr:** 1969**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2004**Anamnese:**

Eine Abklärung mit der Frage nach einem Phäochromozytom erfolgte bei seit ca. einem Jahr rezidivierend auftretenden anfallsartigen Blutdruckkrisen mit Blutdruckwerten bis 200 mmHg systolisch und mit einhergehenden Kopfschmerzen, Palpitationen, Tremor der Hände sowie ausgeprägter Blässe im Gesicht.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Bereich der rechten Nebenniere stellt sich eine ca. 5,2 x 4,7 cm rundliche Formation dar, zystisch imponierend mit soliden Anteilen, Befund vereinbar mit einem Phäochromozytom.

Abdominelles CT: Nachweis einer ca. 5 x 6 cm großen Raumforderung der rechten Nebenniere, vereinbar mit einem Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	263 µg/d	+	Normwert: 3 - 20 µg/d
Noradrenalin im Urin:	718 µg/d	+	Normwert: 15 - 80 µg/d
Dopamin im Urin:	691 µg/d	+	Normwert: 67 - 400 µg/d
Metanephrin im Urin:	5573 µg/d	+	Normwert: - 250 µg/d
Normetanephrin im Urin:	6313 µg/d	+	Normwert: - 450 µg/d

Therapie:

2004: Adrenalektomie rechts (laparoskopisch)

- Histologie: Phäochromozytom der rechten Nebenniere.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13-16:	Normalbefunde

Kommentar: Die molekulargenetischen ergab bei der Patientin keinen auffälligen Befund. Daraufhin wurden weitere Analysen bei den Angehörigen (Sohn und Vater) der Patientin im Rahmen eines Familienscreenings nicht mehr durchgeführt.

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 5,2 x 4,7 cm groß

Fallnummer 6:**Initialen:** J.K.H.**Geburtsjahr:** 1959**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2006**Anamnese:**

Der Patient stellte sich wegen einer hypertensiven Krise mit Blutdruckwerten bis 210/140 mmHg ärztlich vor. Eine arterielle Hypertonie war zu diesem Zeitpunkt bereits vorbekannt. Zusätzlich berichtete der Patient über Herzrasen. Im Rahmen der Blutdruckdiagnostik stellte sich in einer Abdomensonographie eine unklare Raumforderung in Nachbarschaft der linken Nebenniere.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: In unmittelbarer Nachbarschaft der linken Niere ist eine unklare kugelförmige Raumforderung (ca. 7 x 7 cm) ohne messbaren Dopplerfluss sichtbar. Scheint von einer Kapsel umgeben zu sein. Mittig einige echoarme Zonen. DD: Tumor? Inzidentalom? Aortenaneurysma?

Abdominelles CT: Große tumoröse Raumforderung in der linken Ober- bis Mittelbauchregion mit Beziehung zur linken Nebenniere und zum Pankreas. DD: Phäochromozytom, Nebennieren-Raumforderung anderer Genese, Raumforderung ausgehend vom Pankreaskorpus. Keine Infiltration in benachbarte Organe. Keine pathologisch vergrößerten peripankreatischen bzw. retroperitonealen Lymphknoten.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	272 µg/d +	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	480 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	494 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	20.140 µg/d +	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	14.338 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	69 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d
Weitere pathologische Laborwerte: Chromogranin A: 135,0 U/l		Normwert: 0 - 50 U/l

Therapie:

2006: Adrenalektomie links (konventionell-offen)

- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 9,5 x 9,5 x 8 cm groß. Kein Anhalt für angioinvasives oder gefäßüberschreitendes Wachstum.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde

SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Kommentar: Die molekulargenetische Untersuchung erbrachte beim Patienten keine Mutationen. Daraufhin wurden weitere Analysen bei den Angehörigen bzw. bei den Kindern des Patienten im Rahmen eines Familienscreenings nicht mehr durchgeführt.

Diagnose:

Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 9 x 7 cm groß

Fallnummer 7:**Initialen:** L.R.**Geburtsjahr:** 1951**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2003**Anamnese:**

Seit ca. 5 Jahren bestand beim Patienten eine dokumentierte arterielle Hypertonie, welche medikamentös nur sehr schwer zu therapieren war. Darüber hinaus berichtete der Patient über auch seit ca. 5 Jahren rezidivierend auftretende hypertone Krisen bis zu maximalen Blutdruckwerten von 250/180 mmHg, einhergehend mit Tachykardien und Blässe. Im Rahmen der Blutdruckdiagnostik wurden erhöhte Katecholamine im 24-Stunden-Sammelurin sowie eine unklare Raumforderung in Bereich der linken Nebenniere in einer ambulant durchgeführten CT festgestellt.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Abdominelles CT: Am Unterrand der linken Nebennieren eine ca. 1,5 cm große Raumforderung mit mäßiger Kontrastmittelanreicherung, ohne Kalk, ohne „swiss cheese appearance“. Im Bereich der rechten Nebenniere kein Hinweis auf extraadrenale Raumforderung.

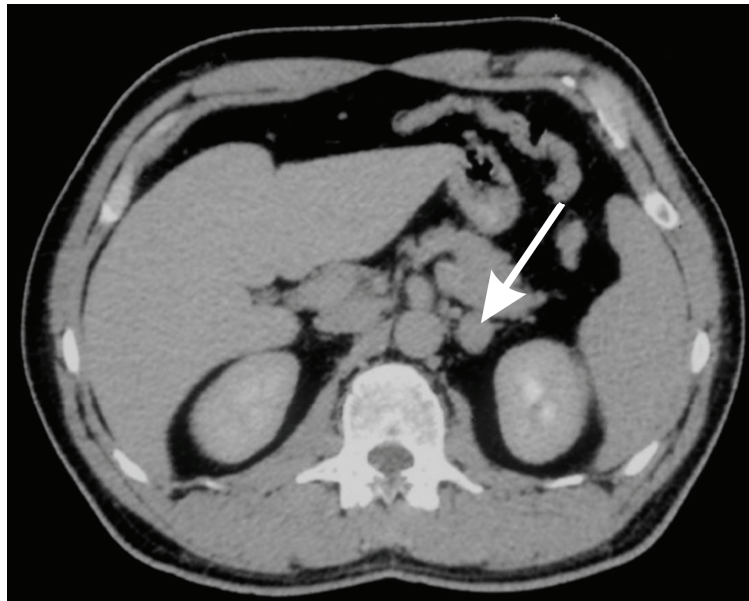


Abbildung 3.3: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das linksseitige Phäochromozytom.

Endosonographie: Die linke Nebenniere zeigt bei unauffälligem Corpus und lateralem Schenkel eine Raumforderung des medialen Schenkels, max. einstellbarer Durchmesser 17 mm, kugelig, zum umgebenden Gewebe sowie zum Corpus der Nebenniere kapsulär abgegrenzt. Der Befund ist echoarm mit einzelnen echoreicheren Bezirken parazentral, kein Nachweis von Nekrosen oder Kalzifikationen. Im Vergleich zum gesunden Gewebe des Nebennierencorpus ist der Befund deutlich hyperperfundiert. Der Befund ist als typisch für ein benignes Phäochromozytom anzusehen, DD kann nach endosonographischen Kriterien ein Adenom nicht ausgeschlossen werden (entsprechende hormonelle Diagnostik erforderlich). Eine subtotale Nebennierenresektion unter

Belassung des Corpus und möglicherweise auch des lateralen Schenkels erscheint nach bildgebenden Kriterien möglich.

MIBG-Szintigraphie: Nach 24 Std. auf den planaren Bildern und nach 4 Std. schon auf den SPECT-Bildern erkennt man auf der linken Seite eine kräftige Nuklidakkretion in Sicht auf den Oberpol der Niere ohne Anhalt für weitere Areale mit pathologisch vermehrter MIBG-Speicherung. Im Sinne der Fragestellung ergibt sich somit ein Befund passend zu einem Phäochromozytom im Bereich der linken Nebenniere ohne Anhalt für weitere Filiae.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	56 µg/d +	Normwert: 3 - 20 µg/d
Noradrenalin im Urin:	145 µg/d +	Normwert: 15 - 105 µg/d
Dopamin im Urin:	792 µg/d +	Normwert: 65 - 450 µg/d

Clonidin Test:

	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):	Dopamin (EDTA)
Min -30:	21 ng/l	310 ng/l	10 ng/l
Min 0:	44 ng/l	246 ng/l	53 ng/l
Min 180:	6 ng/l	141 ng/l	38 ng/l

Beurteilung: Bei niedrig normalen Basalwerten kann der Clonidin-Test nicht ausreichend beurteilt werden.

Therapie:

2003: Adrenalektomie links (laparoskopisch)

- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 1,7 cm groß

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 1,7 cm groß

Fallnummer 8:**Initialen:** N.J.**Geburtsjahr:** 1947**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2002**Anamnese:**

Der Patient stellte sich wegen einer hypertensiven Krise mit Blutdruckwerten bis 240/100 mmHg bei seit ca. 4 Jahren vorbekannter arterieller Hypertonie ärztlich vor. Im Rahmen der Blutdruckdiagnostik fiel bei einer sonographischen Untersuchung eine ca. 5,5 x 6 cm große Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere auf.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Auffallend ist in der rechten Nebennierenregion eine 5,5 x 6 cm große zystische Raumforderung mit parenchymatösen Anteilen.

Abdominelles CT: Computertomographisch hochgradiger Verdacht auf ein großes Phäochromozytom mit den Ausmaßen von weit über 5 cm. Eine sichere Abgrenzung des Phäochromozytoms ist naturgegebenerweise computertomographisch nicht möglich.

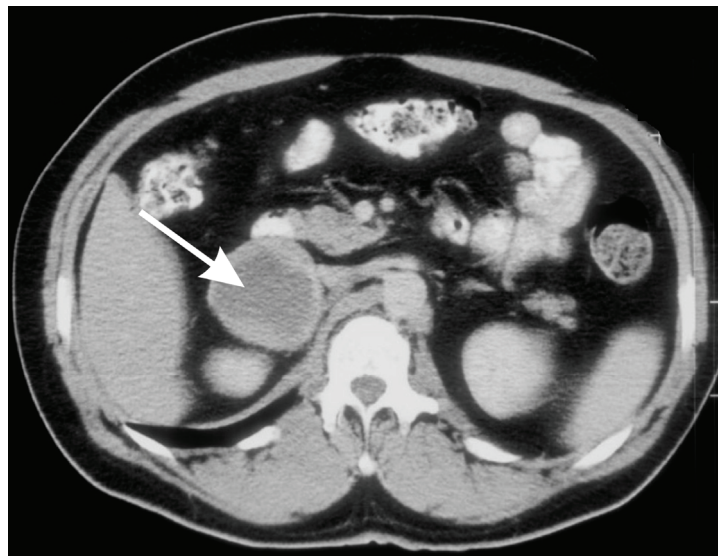


Abbildung 3.4: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das rechtsseitige Phäochromozytom.

MIBG-Szintigraphie: Auffällig ist sowohl in der 4 Stunden- als auch in der 24 Stunden-Aufnahme ein ausgedehnter, kreisrunder Bezirk in Sicht auf den oberen rechten Nierenpol. Weitere Bezirke mit pathologisch vermehrter oder verminderter Aktivitätsanreicherung kommen nicht zur Darstellung. Der Befund ist vereinbar mit einem Phäochromozytom im Bereich der rechten Nebenniere mit einem Durchmesser von ca. 5 - 7 cm.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	202 µg/d +	Normwert: 4 - 20 µg/d
Noradrenalin im Urin:	156 µg/d +	Normwert: 23 - 105 µg/d
Dopamin im Urin:	454 µg/d +	Normwert: 190 - 450 µg/d

Therapie:

2002: Adrenalektomie rechts (konventionell-offen)

- Histologie: Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 5 x 6 cm groß. Kein Anhalt für angioinvasives oder gefäßüberschreitendes Wachstum.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 5,5 x 6 cm groß

Fallnummer 9:**Initialen:** S.D.**Geburtsjahr:** 1950**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2004**Anamnese:**

Im Rahmen einer MRT-Untersuchung der LWS fiel nebenbefundlich eine Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere auf. Blutdruckkrisen, Herzrasen, Kopfschmerzen oder Schwindel wurden von der Patientin verneint. Sie berichtete, eher hypotone Blutdruckwerte zu haben.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Bereich der rechten Nebennierenregion stellt sich eine echoarme, im Durchmesser 3,9 x 2,9 cm betragende homogene Tumorfomation dar. Linke Nebenniere unauffällig.

LWS-MRT: Unklare ca. 2 x 2,5 cm große Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere.

MIBG-Szintigraphie: Kräftige Anreicherung in Projektion auf den im MRT beschriebenen Tumor der rechten Nebenniere sowie eine Anreicherung mit aber deutlich geringerer Speicherintensität der linken Nebenniere. Der Befund ist mit einem Phäochromozytom der rechten Nebenniere vereinbar.

Endosonographie: Die linke Nebenniere ist zentral verdickt und weist im Hilusbereich eine echoreiche, nicht hyperperfundierte, nicht kapsulär begrenzte Binnenformation auf, die gut zu einer Hyperplasie des Nebennierenmarks passt. Ein umschriebener Tumor im Sinne eines Zweitphäochromozytoms ist nicht nachweisbar. In der rechten Nebenniere, ausgehend vom Corpus, craniomedial liegend, findet sich eine zur gesunden Nebenniere und zur Umgebung kapsulär abgegrenzte, relativ echoreiche, mit kleinen zystisch-nekrotischen Anteilen und kleinen echodichten Einsprengseln versehene, zur restlichen Nebenniere nicht hyperperfundierte, rundliche Raumforderung auf, maximaler Durchmesser 32 mm. Die endosonographische Morphologie ist typisch für ein Phäochromozytom. Ein infiltratives Wachstum in Nachbarstrukturen ist nicht nachweisbar. Die lateralen, im Vergleich zum Tumor deutlich echoärmeren Organanteile sind morphologisch unauffällig, so dass die Option einer selektiven Resektion mit den Chirurgen besprochen werden sollte, zumal die prognostische Relevanz der kontralateralen Nebennierenmarkhyperplasie nicht beurteilt werden kann.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	19,05 µg/d	Normwert: 3 - 20 µg/d
Noradrenalin im Urin:	47,88 µg/d	Normwert: 15 - 105 µg/d
Dopamin im Urin:	141,28 µg/d	Normwert: 67 - 460 µg/d
Metanephrin im Urin:	388,28 µg/d +	Normwert: - 300 µg/d
Normetanephrin im Urin:	1088,73 µg/d +	Normwert: - 360 µg/d
VMA im Urin:	6,02 mg/d	Normwert: 3 - 7 mg/d

Therapie:

2004: Partielle Adrenalectomie rechts (laparoskopisch)

- Histologie: Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 3,5 cm groß.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13-16:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 3,5 cm groß

Fallnummer 10:**Initialen:** M.I.**Geburtsjahr:** 1960**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2007**Anamnese:**

Beim Patienten erfolgte bei neu aufgetretener therapierefraktärer arterieller Hypertonie eine ambulante MRT der Nebennieren. Dabei zeigten sich zwei Raumforderungen der linken Nebenniere. Der Patient berichtete ebenfalls über seit einigen Monaten vermehrt auftretende Kopfschmerzen, Schweißausbrüchen, sowie über eine Gewichtszunahme von 10 kg und eine gesteigerte Nervosität.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Abdominelles MRT und CT: Die linke Nebenniere zeigt am medialen Schenkel eine Auftreibung von 1,6 x 1,6 cm und am lateralen Schenkel an der Spitze eine 4,8 x 4,7 cm große Raumforderung. Diese ist glatt berandet, zeigt im Zentrum eine Hypointensität wie bei Verkalkung. In T2-Wichtung ähnliches Signal wie das Nierenparenchym. Nach Kontrastmittelgabe nur mäßiges und verzögertes Enhancement. Paraaortal keine vergrößerte Lymphknoten.

Zwar sprechen die Signalcharakteristika nicht eindeutig für ein Phäochromozytom, jedoch muss diese aufgrund der Lokalisation, der Verkalkung und der Duplizität der Raumforderungen ausgeschlossen werden. Die zusätzlich durchgeführte CT-Untersuchung, nativ nach der MRT, bestätigte feine Randverkalkungen und eine zentrale kräftige rundliche glatt begrenzte Verkalkung mit zentraler Aufhellung.

MIBG-Szintigraphie: Intensive Mehranreicherung im oberen Abdomen links, im Vergleich zur Leberaufnahme deutlich stärkere Anreicherung. Dieser Befund ist gut vereinbar mit einem Phäochromozytom der linken Nebenniere.

Endosonographie: Die linke Nebenniere ist im Bereich der Hilusregion morphologisch unauffällig. Ausgehend vom Corpus nach dorsal lateral stellt sich eine echoarme, weitgehend homogene, im Vergleich zur gesund aussehenden Nebenniere mäßig hyperperfundierte Raumforderung dar, maximaler Durchmesser 25 mm. Der Befund ist kapsulär begrenzt und passt gut zu einem Adenom, DD kommt auch ein Phäochromozytom in Frage. (In dieser Größe haben Phäochromozytome oft noch keine charakteristischen morphologischen Merkmale.) Apikal am lateralen Schenkel des Organs stellt sich ein weiterer, maximal im Durchmesser 54 mm messender Befund dar, ebenfalls mäßig echoarm, winzige echofreie Binnenareale, z.B. kleine Nekrosen, ferner zwei Verkalkungen 11 mm und ca. 2 mm tragend. Der Befund ist im Vergleich zum benachbarten Pankreasschwanz deutlich, im Vergleich zur normal aussehenden Nebenniere mäßig hyperperfundiert. Die Morphologie dieses Befundes passt gut zu einem Phäochromozytom, andere Differentialdiagnosen, auch ein adrenocorticales Karzinom, bleiben zu erwägen.

Die rechte Nebenniere ist leider bei erheblicher abdomineller Adipositas nur sehr eingeschränkt einsehbar. Kein Nachweis raumfordernder Prozesse bei relevant eingeschränkter Beurteilbarkeit.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	51 µg/d +	Normwert: 3 - 18 µg/d
Noradrenalin im Urin:	86 µg/d +	Normwert: 15 - 80 µg/d
Dopamin im Urin:	395 µg/d	Normwert: 67 - 450 µg/d
Metanephrin im Plasma:	652 ng/l +	Normwert: - 90 ng/l
Normetanephrin im Plasma:	218 ng/l +	Normwert: - 200 ng/l
Weitere Laborwerte: Chromogranin A:	13,0 U/l	Normwert: 0 - 50 U/l

Therapie:

2007: Adrenalektomie links (laparoskopisch) und Entfernung eines Nebennierenrindenadenoms links

- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 6,5 cm groß ohne Nachweis von Malignitätskriterien. Weiterhin ein Nebennierenrindenadenom, ebenfalls ohne Anhalt für Malignität.

Verlauf:

Seit 2009 zeigte sich eine erhöhte Noradrenalin- und Dopamin-Ausscheidung im Urin bei allerdings unauffälligem Clonidin-Test. Bildgebend (MRT, Endosonographie, MIBG-Szintigraphie) gab es zunächst kein Korrelat für die erhöhte Katecholaminausscheidung und somit keinen Hinweis für ein Rezidiv oder Metastasen des Phäochromozytoms. 2010 zeigten sich im MRT, im Vergleich zur Voruntersuchung, mehrere kleine Knötchen in der linken Nebennierenloge mit deutlicher Kontrastmittelaufnahme. Die MIBG-Szintigraphie und DOPA-PET-CT erbrachten keinen Anhalt für eine Mehrbelegung im Sinne eines Phäochromozytoms. Clonidin-Test war weiterhin unauffällig. Der Verdacht auf ein Phäochromozytom bzw. Rezidiv oder Metastasen des Phäochromozytom ließ sich somit nicht bestätigen.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 6,5 cm groß

Fallnummer 11:

Initialen: C.H.
Geschlecht: männlich

Geburtsjahr: 1964
Jahr der Operation: 2007

Anamnese:

Beim Patienten kam es im Jahr 2007 zu einer hypertensiven Entgleisung mit Blutdruckwerten bis 230/160 mmHg mit einhergehender Sinustachykardie und Linksherzdekompensation mit interstitiellem Lungenödem. Der Patient berichtete über seit Monaten bestehende Dyspnoe und intermittierend auftretende thorakale Schmerzen. Eine arterielle Hypertonie war bis zu diesem Zeitpunkt nicht bekannt.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Bereich der rechten Nebenniere findet sich eine große überwiegend echoreiche Läsion mit zystischen Anteilen (größter Durchmesser 6,2 cm, größte Zyste 2 cm).

Abdominelles CT: Große Raumforderung der rechten Nebenniere (6 x 5 cm) mit nekrotischen Arealen. Hochgradiger Verdacht auf ein Phäochromozytom der rechten Nebenniere, keine weiteren Raumforderungen längs des sympathischen Grenzstrangs. Kein Nachweis von Metastasen im untersuchten Volumen.

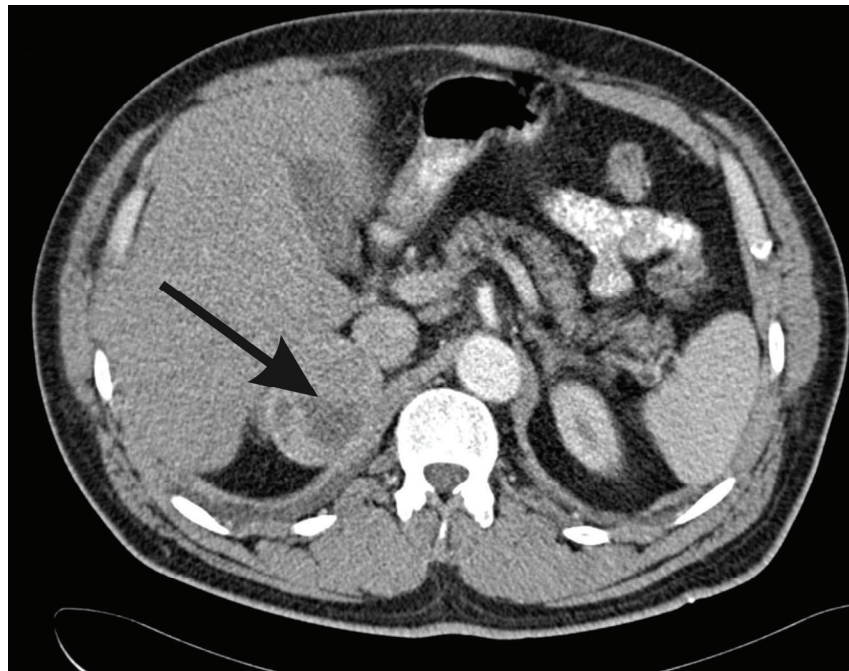


Abbildung 3.5: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das rechtsseitige Phäochromozytom.

MIBG-Szintigraphie: In planarer Sicht findet sich eine große fokale Mehrbelegung in Projektion auf die rechten Nebenniere. Linksseitig unauffälliger Befund. Weitere pathologische Speicherherde stellen sich nicht dar. Die Anreicherung in Lunge, Leber, Speicheldrüsen sowie Myokard ist physiologischer MIBG-Uptake. Somit dringender Verdacht auf Vorliegen eines Phäochromozytoms rechts.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	715,24 µg/d +	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	759,32 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	451,62 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	10.031,48 µg/d +	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	6.517,55 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	34,18 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d
Weitere pathologische Laborwerte: Chromogranin A: 118,0 U/l		Normwert: 0 - 50 U/l

Weitere pathologische Ergebnisse:

Fehlende Suppression des Cortisols und ACTH-Wertes im Dexamethason-Kurztest sowie im hochdosierten Dexamethason-Test, vereinbar mit einem ACTH-produzierenden Phäochromozytom DD maligner Misch tumor mit Anteilen eines Nebennierenrinden-Karzinoms.

Therapie:

2007: Adrenalektomie rechts (laparoskopisch)

- Histologie: Zentral regressiv verändertes, 6 cm großes Phäochromozytom, morphologisch wie immunhistochemisch nicht verdächtig auf Malignität; fokale geringe Expression von ACTH, wobei bei Phäochromozytomen eine gelegentliche ACTH-Produktion möglich ist.

Verlauf:

Der Patient wies weiterhin eine maligne arterielle Hypertonie mit rezidivierenden hypertensiven Entgleisungen auf. Laborchemisch und bildgebend gab es zu keinem Zeitpunkt Hinweise auf ein Rezidiv oder Metastasen des Phäochromozytoms.

Bei präoperativ bestehendem ACTH-abhängigem Hypercortisolismus und in der Histologie des Phäochromozytoms nachgewiesener ACTH-Expression lag am ehesten ein ACTH-produzierendes Phäochromozytom vor. Postoperativ erbrachte die endokrinologische Diagnostik keinen Hinweis auf das Fortbestehen der übermäßigen ACTH-Produktion. Eine postoperative Substitutionstherapie mit Hydrokortison konnte im Verlauf abgesetzt werden.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 6 cm groß, ACTH-produzierend

Fallnummer 12:

Initialen: L.M.
Geschlecht: weiblich

Geburtsjahr: 1957
Jahr der Operation: 2005

Anamnese:

Die Patientin stellte sich im Krankenhaus wegen einer hypertensiven Krise mit Blutdruckwerten bis 215/105 mmHg bei vorbekannter arterieller Hypertonie, mit einhergehenden Herzrasen, Palpitationen, Übelkeit und Hitzewallungen vor. Es kam im Verlauf zu einem akuten subendokardialen Myokardinfarkt, eine koronare Herzkrankheit konnte allerdings mittels Koronarangiographie ausgeschlossen werden. Im Rahmen der Blutdruckdiagnostik fiel bei einer sonographischen Untersuchung eine ca. 2 cm große Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere auf.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Bereich der rechten Nebenniere zeigt sich ein homogener tumoröser Prozess, ca. 2 cm groß.

Abdominelles CT: Raumforderung der rechten Nebenniere. Adenom ? Hyperplasie? Keine Infiltration in die Umgebung. Kein Hinweis auf Filiae oder Lymphome.

MIBG-Szintigraphie: Neben der physiologischen Speicherung im Myokard, den Speicheldrüsen, der Milz, gering der Leber und der Blase stellt sich ein kräftiger pathologischer Speicherherd in Sicht auf die rechte Nebennierenregion dar. Zusätzlich kommt in Sicht auf die Leber - vermutlich Lebersegment 4/8 - eine kleine jedoch umschriebene fokale Mehranreicherung zur Darstellung.

(In der Kontrastmittel-Sonographie sowie im CT ergab sich kein Anhalt für Lebermetastasen).

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	33,66 µg/d +	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	79,42 µg/d	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	448,63 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	4227,44 µg/d +	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	2228,60 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	14,40 mg/d +	Normwert: 2 - 9 mg/d
Weitere Laborwerte:	Chromogranin A: 27,0 U/l	Normwert: 0 - 50 U/l

Therapie:

2005: Exstirpation des Paraganglioms in der rechten Nebennierenloge (laparoskopisch) – intraoperativ kein Bezug zur rechten Nebenniere

- Histologie: Extraadrenales Paragangliom rechts, ca. 4 cm groß
- Leberbiopsie aus dem Segment 7
- Histologie: Tumorfrees Lebergewebe

Verlauf:

Ende 2005 erbrachte die Verlaufskontrolle den Nachweis eines ca. 3 cm großen Tumors im Bereich der linken Beckenwand, die Hormondiagnostik hinsichtlich eines Paraganglioms war allerdings unauffällig. Nach Durchführung einer prophylaktischen medikamentösen Alpha-Blockade erfolgte eine transperitoneale Resektion des Tumors, die histologische Untersuchung erbrachte den Befund eines regressiv veränderten Schwannoms.

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Extraadrenales Phäochromozytom (Paragangliom) der rechten Nebennierenloge, ca. 5 x 4 x 2 cm groß, ohne Bezug zur rechten Nebenniere

Fallnummer 13:

Initialen: H.A.
Geschlecht: weiblich

Geburtsjahr: 1937
Jahr der Operation: 2002

Anamnese:

Die Patientin stellte sich im Krankenhaus zur Abklärung einer seit ca. 6 Monaten bestehenden therapierefraktären arteriellen Hypertonie mit intermittierenden krisenhaften Blutdruck-Entgleisungen und einhergehenden Kopfschmerzen vor.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Nebennieren beidseits nicht darstellbar.

Abdominelles CT: Kein Nachweis eines intraabdominellen Phäochromozytoms.

MIBG-Szintigraphie: Es ergibt sich kein Hinweis auf einen MIBG-positiven Tumor.

Endosonographie: Die linke Nebenniere ist morphologisch komplett unauffällig. Die rechte Nebenniere weist im Hilusbereich eine kleine, etwas heterogen-echoreiche knotige Formation auf, die weder nachweisbar hyperperfundiert noch deutlich kapsulär begrenzt ist, maximaler Durchmesser ca. 7 mm. Dieser Befund ist eher nicht typisch für ein Phäochromozytom, bedarf aber Kontrolle. Bei der Passage des Ösophagus kommt es zu einer eindrucksvollen Blutdruckentgleisung bis knapp 150 mmHg diastolisch. Es wird deshalb entschieden, die Untersuchung um eine Inspektion des Mediastinums zu erweitern. Hierbei findet sich 28 cm ab Zahnreihe rechts ventral parakardial eine gut begrenzte, mäßig echoarme, leicht heterogene Raumforderung mit einer kleinen Verkalkung, maximal einstellbarer Durchmesser 33 mm. Dieser Befund ist dringend verdächtig, dem gesuchten Phäochromozytom zu entsprechen.

Echokardiographie: Normal großer, deutlich konzentrisch hypertrophierter linker Ventrikel mit guter systolischer und gestörter diastolischer Funktion. EF 60 bis 65%. Keine RWBS abgrenzbar. Vorhöfe und rechter Ventrikel normal groß. Keine höhergradigen Vitien am Mitral- und Aortenklappe. Trikuspidalklappe nicht ausreichend beurteilbar. PA-Druck nicht messbar. Kein Perikarderguß.

Thorakales CT: Am Herzen rechts hinter der Vena cava superior und vor der Lungenvenenmündung rechts lässt sich eine 2 x 3 cm große, solide, gut perfundierte Raumforderung abgrenzen.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	33 µg/d	Normwert: 3 - 27 µg/24h
Noradrenalin im Urin:	193 µg/d +	Normwert: 15 - 80 µg/d
Dopamin im Urin:	301 µg/d	Normwert: 65 - 450 µg/d

Clonidin Test:

	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):
Min -30:	47 ng/l	948 ng/l
Min 0:	31 ng/l	643 ng/l
Min 180:	25 ng/l	498 ng/l

Beurteilung: Unzureichende Suppression des Noradrenalins nach Gabe von Clonidin.

Therapie:

- 2002: Resektion des rechts parakardialen Paraganglioms sowie partielle Resektion von V. cava superior und rechtem Vorhof mit Rekonstruktion mit Dacronpatch unter Einsatz der Herz-Lunge-Maschine
- Histologie: parakardiales Paragangliom

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHC	Exon 1-6:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10, 11, 13:	Normalbefunde

Diagnose:

Extraadrenales Phäochromozytom, ca. 3 cm groß, parakardial in der Nähe des rechten Vorhofs gelegen

Fallnummer 14:**Initialen:** S.K.**Geburtsjahr:** 1957**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2004**Anamnese:**

Die Patientin stellte sich wegen persistierender Rückenschmerzen ärztlich vor. In der durchgeführten Diagnostik zeigte sich sonographisch eine unklare Raumforderung interaortocaval. Klinisch wies die Patientin keine typische Symptomatik hinsichtlich eines Phäochromozytoms auf.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Eine 4 x 3,5 cm irregulär begrenzte Tumorfornation in der Paraaortalregion, die in der Farbdoppler-Sonographie eine randständige Vaskularisation aufweist. An Nebennieren soweit einsehbar unauffälliger Befund.

Abdominelles CT: Eine ca. 3 x 2 cm große Raumforderung interaortocaval.

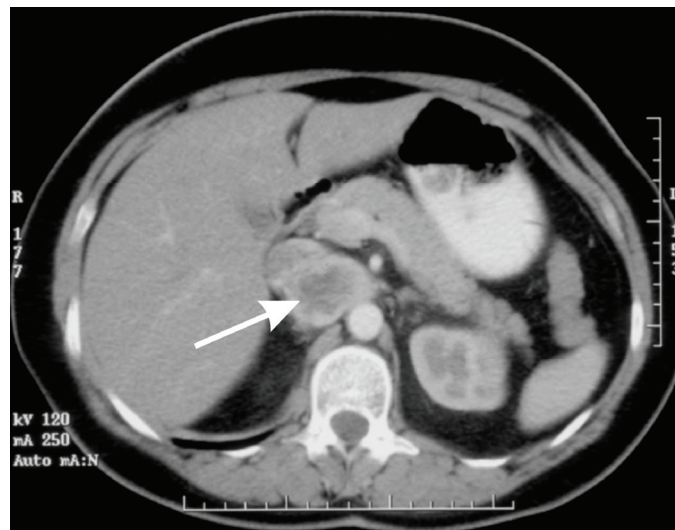


Abbildung 3.6: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das interaortocavale Paragangliom.

MIBG-Szintigraphie: In Sicht auf das mittlere Abdomen stellt sich eine deutlich aktivitätsaufnehmende Formation dar, etwa in Höhe des rechten Nierenpols in der Medianlinie. Beidseits davon lassen sich kleine Mehranreicherungen abgrenzen, bei denen es sich vermutlich um die normalen Nebennieren der Patientin handelt. Somit deutlich MIBG-positiver Tumor im Oberbauchbereich, gut vereinbar mit dem CT-morphologisch gesehenen interaortocavalen Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	8,53 µg/d	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	452,80 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	281,04 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	134,45 µg/d	Normwert: - 300 µg/d
Normetanephrin im Urin:	1796,72 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	8,48 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d

Therapie:

2004: Exstirpation des extraadrenalen interaortocavalen Paraganglioms (konventionell-offen)
- Histologie: Extraadrenales (interaortocavales) Paragangliom, ca. 4 cm groß, mit geringem Proliferationsindex von ca. 1 %, kein Nachweis einer Angioinvasion.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv oder Metastasen des interaortocavalen Paraganglioms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Extraadrenales interaortocavales Paragangliom, ca. 4 cm groß

Fallnummer 15:**Initialen:** S.U.**Geburtsjahr:** 1938**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2003**Anamnese:**

Bei der Patientin war seit 1991 ein Hypertonus bekannt. Im Jahr 2003 wurde die Patientin wegen einer hypertensiven Krise mit Blutdruckwerten bis 220/110 mmHg mit einhergehendem Schwindel, Übelkeit, Parästhesien der rechten Gesichtshälfte und Sehstörungen stationär aufgenommen. Die bildgebende Diagnostik (Abdomen-Ultraschall und CT Abdomen) wiesen auf eine große Raumforderung im Bereich der linken Nebenniere hin. Die Raumforderung wurde punktiert und die histologische Untersuchung erbrachte den Befund eines Phäochromozytoms (zytoplasmatische Expression von Chromogranin A und Synaptophysin) mit maximalem Proliferationsindex von ca. 1%.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Linksseitig 8,5 x 7 cm große Raumforderung fraglich anhängend an die Niere. DD Phäochromozytom, unklarer Nebennierentumor.

Abdominelles CT: Große Raumforderung im Bereich der linken Nebenniere, ca. 9 cm groß, nicht von der Niere abgrenzbar. Keine anderen Auffälligkeiten.

MIBG-Szintigraphie: Auffällig ist ein ausgedehnter Bezirk mit deutlich vermehrter Aktivitätsanreicherung in Sicht auf die linke Nebennierenloge. Ferner findet sich ein kleiner Bezirk mit deutlich vermehrter Aktivitätsbindung in Sicht auf die rechte Nebenniere. Der Befund ist vereinbar mit einem ausgedehnten Phäochromozytom links, zudem muss von einem kleinen Phäochromozytom auch im Bereich der rechten Nebenniere ausgegangen werden.

Endosonographie: Im Bereich der linken Nebenniere zeigt sich eine 11,3 x 10,2 cm messende, sehr heterogene, mit multiplen zystischen Anteilen versehene, mehrknotig aufgebaute Raumforderung. Eine Hyperperfusion besteht nicht. Der Befund ist in allen darstellbaren Projektionen kapsulär begrenzt, es besteht eine Verdrängung der Nachbarstrukturen einschließlich der Milzgefäße, kein Nachweis einer Infiltration von Nachbarstrukturen oder Nachbarorganen. Kein Nachweis lokoregionärer Lymphknotenveränderungen. Die endosonographische Morphologie ist typisch für ein Phäochromozytom, das Perfusionsverhalten nicht, aber mit der Diagnose vereinbar. Im Bereich der rechten Nebenniere findet sich im lateralen Organteil zwischen medialem und lateralem Schenkel eine weitgehend homogen echoreiche Raumforderung, 13 x 7 mm messend, gut begrenzt zum normalen Nebennierengewebe, ohne Nachweis einer Hyperperfusion. In Anbetracht der Gesamtkonstellation handelt es sich in erster Linie um ein zweites Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin: 4,38 µg/d

Normwert: 3 - 20 µg/d

Noradrenalin im Urin: 57,87 µg/d

Normwert: 15 - 105 µg/d

Dopamin im Urin:	192,97 µg/d	Normwert: 67 - 460 µg/d
Metanephrin im Urin:	316,54 µg/d +	Normwert: - 300 µg/d
Normetanephrin im Urin:	31.468,32 µg/d +	Normwert: - 360 µg/d
VMA im Urin:	39,20 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d

Therapie:

2003: Adrenalektomie links und partielle Adrenalektomie rechts (konventionell-offen)

- Histologie: 1. Malignes Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 12 cm groß, mit Lymphspalteneinbrüchen und einer Lymphknotenmetastase
- 2. Weitgehend altersentsprechendes Nebennierengewebe rechts. Das morphologische Bild einer diffusen Markhyperplasie liegt nicht vor.

Verlauf:

Postoperativ erfolgte ein erneutes Staging, dabei zeigte sich kein Nachweis eines Lokalrezidivs oder einer Fernmetastasierung. Im weiteren Verlauf erfolgten engmaschige Kontrollen, zunächst in 3 Monaten Abstand, aktuell jährlich. Es gab zu keinem Zeitpunkt einen deutlichen Hinweis auf ein Rezidiv des malignen Phäochromozytoms.

Trotz subtotaler Adrenalektomie zeigte sich im Verlauf eine persistierende partielle Nebenniereninsuffizienz mit der Notwendigkeit einer Substitutionstherapie mit Hydrokortison.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10, 11, 13:	Normalbefunde

Diagnose:

Malignes Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 12 cm groß, ohne Nachweis von Metastasen im Verlauf

Fallnummer 16:**Initialen:** R.W.I.**Geburtsjahr:** 1953**Geschlecht:** weiblich**Jahr der ersten Operation:** 1989**Anamnese:**

Die Patientin wurde zunächst mit äußerst starken krisenhaft auftretenden Kopfschmerzen und Übelkeit ins Krankenhaus eingewiesen. Bei Aufnahme berichtete die Patientin auch über oft stark erhöhte Blutdruckwerte seit ca. 6 Monaten. Nach Ausschluss neurologischer Ausfälle wurde die Patientin wegen unklarer Blutzucker- und Blutdruckentgleisung in die Abteilung für Innere Medizin zur weiteren Diagnostik und Therapie verlegt.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Pathologische Raumforderung im Bereich des oberen Nierenpols links, ca. 4,8 cm Durchmesser, die nicht ganz glatt abgrenzbar ist und sehr echoarm. Sie zeigt eine relativ dicke Kapsel mit dorsaler Schallverstärkung und Binnenechos intraluminal.

Abdominelles CT: Die rechte Nebenniere stellt sich zart und regelrecht konfiguriert dar. Die linke Nebenniere weist an ihrem lateralen Schenkel eine 5 x 5 cm große, runde, glatt begrenzte inhomogene und weichteildichte Struktur auf, die die linke Niere nach dorso-caudal geringfügig verlagert, von ihr aber in allen Schnittebenen regelrecht abzugrenzen ist. Nach KM-Gabe sehr inhomogenes, zum Teil sehr kräftiges und zum Teil auch fast fehlendes KM-Enhancement, wobei sich insbesondere ventral und zentral umschriebene hypodense Areale demarkieren. Die Raumforderung entspricht anhand ihrer Größe und Morphologie am ehesten einem Phäochromozytom mit mehreren kleinen Nekrosen bzw. zystischen Degenerationen.

MIBG-Szintigraphie: Pathologische Anreicherung im Bereich der linken Nebennierenloge. Dringender Verdacht auf ein Phäochromozytom im Bereich der linken Nebenniere.

Katecholamine-Bestimmung:

1989:	Adrenalin im Urin:	normal*	Normwert: 3 - 28 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	normal*	Normwert: 15 - 100 µg/d
	Dopamin im Urin:	normal*	Normwert: 67 - 500 µg/d
	Metanephrin im Urin:	12.690 µg/d +	Normwert: - 320 µg/d
	Normetanephrin im Urin:	normal*	Normwert: - 480 µg/d
	VMA im Urin:	normal*	Normwert: 3 - 7 mg/d
	Adrenalin im Plasma:	152 ng/l +	Normwert: - 140 ng/l
	Noradrenalin im Plasma:	normal*	Normwert: - 470 ng/l

* Die genauen Werte waren nicht auffindbar. Die Angaben „normal“ ergaben sich aus den Arztberichten.

Therapie:

1989: Adrenalektomie links (konventionell-offen)

- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 5 x 5 cm groß

- 1992: Tumorexstirpation bei Rezidivtumor in der Loge der ehemaligen linken Nebennieren
- Histologie: knotiges Tumorgewebe eines malignen Phäochromozytoms
- 1993: Tumorexstirpation, Nephrektomie links, Splenektomie, Pankreasschwanzresektion und Lymphknotendissektion bei Lokalrezidiv
- Histologie: Lokalrezidiv des malignen Phäochromozytoms mit randlicher Fettgewebsinfiltration. Metastase im Bereich des Nierenhilus-Fettgewebes der linken Niere. Fett-Bindegewebe retroperitoneal und aus dem Nierenhilus mit ausgeprägter Infiltration durch das bekannte Phäochromozytom. Lymphknotenmetastase aus dem Bereich des Nierenhilus links. Unauffälliger Milz.
- 1993: Tumorexstirpation bei Rezidivtumor im Retroperitoneum
- Histologie: diffuse Fettgewebsinfiltration des bekannten malignen Phäochromozytoms.
- 2000: Zwerchfell-Teilresektion links, Peritoneal-Probenentnahme, Revision Unterbauch
- Histologie: Die aus dem Zwerchfell entnommene Probe zeigt Phäochromozytomanteile. Die aus dem Peritoneum entnommene Probe zeigt ebenfalls Absiedlungen eines Phäochromozytoms.
- 1994 u. 1997: insgesamt 6 Zyklen Jod-131-MIBG-Therapie
- 1995 - 1997: insgesamt 13 Zyklen Chemotherapie mit Dacarbazin, Vincristin, Cyclophosphamid

Verlauf:

Postoperativ war die Katecholaminausscheidung normwertig, die Patientin wies keine Blutdruckentgleisungen mehr auf. Im Jahr 1992 zeigte sich bei der Patientin jedoch eine deutliche Erhöhung der Katecholaminausscheidung beim Nachweis eines ca. 4 x 2 cm großen Rezidivtumors in der Loge der ehemaligen linken Nebennieren. Auch szintigraphisch ließ sich dieser Befund nachvollziehen. Der Rezidivtumor wurde 1992 exstirpiert, postoperativ zeigten sich allerdings weiterhin erhöhte Werte von Adrenalin und Noradrenalin im 24-Stunden-Sammelurin. Gegen Ende des stationären Aufenthaltes klagte die Patientin erneut über innere Unruhe, welche schon vor der Operation bestand. Beim Nachweis eines erneuten Lokalrezidivs erfolgte im Jahr 1993 eine erneute Tumorexstirpation mit einschließlich Lymphknotendissektion, Nephrektomie links, Splenektomie und Pankreasschwanzresektion. Drei Monate später kam es zu einer erneuten operativen Tumorexstirpation beim Rezidivtumor im Retroperitoneum. Bei einer postoperativ durchgeführten Kontrolluntersuchung lagen Adrenalin und Noradrenalin im Normbereich vor. Im Jahr 2000 fielen erneut erhöhte Parameter von Adrenalin, Noradrenalin, Metanephrin und Normetanephrin im Sammelurin auf. Bei morphologischem Korrelat in der Bildgebung, einschließlich in der MIBG-Szintigraphie, erfolgten im selben Jahr eine Zwerchfellteilresektion und Probenentnahmen aus dem Peritoneum. Histologisch wurde ein Lokalrezidiv am linken Zwerchfell sowie eine Peritonealmetastasierung bestätigt.

Trotz Therapie mit Alpha- und Betablocker klagte die Patientin weiterhin über Phäochromozytom-typische Symptomatik, insbesondere bei Druckausübung auf den Bauchbereich. Szintigraphisch zeigten sich im Verlauf multiple verdächtige Anreicherungen auf. Ein morphologisches Korrelat zu

der MIBG-Mehranreicherung konnte in der Schnittbildgebung nicht sicher dargestellt werden. Auf eine weitere operative Intervention wurde somit verzichtet.

Darüber hinaus erfolgten bei der Patientin im Jahr 1994 und 1997 insgesamt 6 Zyklen Jod-131-MIBG-Therapie und zwischen 1995 und 1997 insgesamt 13 Zyklen Chemotherapie mit Dacarbazin, Vincristin und Cyclophosphamid.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

Diagnose:

Malignes Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 5 cm groß, mit multiplen Metastasen im Verlauf

Fallnummer 17:**Initialen:** H.C.**Geburtsjahr:** 1972**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2005**Anamnese:**

Der Patient stellte sich wegen einer hypertensiven Krise mit systolischen Blutdruckwerten bis 260 mmHg ärztlich vor und berichtete bei der Aufnahme über seit ca. 2 Monaten rezidivierend aufgetretene Palpitationen, einhergehend mit Kopfschmerzen, Übelkeit, Schweißausbrüchen und Schwindel, mit zunehmender Frequenz und Intensität der Attacken. Im Verlauf konnten systolische Blutdruckspitzen bis 300 mmHg gemessen werden, es kam auch zu rezidivierenden Sinustachykardien bis 175 Schläge/min sowie einmalig zur einer AV-nodalen/AV-junktionalen supraventrikulären Tachykardie. Bei Aufnahme fiel auch eine hyperglykämische Stoffwechsellage mit HbA1c von 7,0% auf.

Familienanamnese:

Am Anfang gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese. Im Verlauf wurden weitere Angehörige mit MEN 2A-Syndrom diagnostiziert. Nach der Diagnosestellung wurde ein Stammbaum erstellt.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: An beiden Nieren cranial Darstellung polyzyklischer Parenchymtumoren unklarer Dignität, jeweils ca. 5 cm groß.

Abdominelles CT: Ca. 6 x 5,5 x 5 cm messende, teils solide, mäßig kontrastaffine, teils semiliquide glatt begrenzte Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere. Ca. 6 x 4,5 x 4,5 cm messende vorwiegend solide, teils semiliquide und glatt begrenzte, mäßig kontrastaffine Raumforderung in Höhe der linken Nebenniere. Nur dezente kapselständige Tumorverkalkungen beidseits. Artdiagnostisch können Phäochromozytome vorliegen. Kein Nachweis pathologisch vergrößerter retroperitonealer, periaortaler Lymphknoten.

Endosonographie: Die linke Nebenniere trägt ausgehend vom Hilusbereich / medialem Schenkel eine nach dorsal gehende, gut abgegrenzte, mit nodulären echoreicheren und auch echoärmeren, auch fast echofreien Arealen versehene, einzelne Mikroverkalkungen aufweisende, maximal 48 x 41 mm messende Raumforderung, ohne Nachweis einer relevanten Hyperperfusion. Der Tumor geht eindeutig von der Nebenniere aus, ist also nicht paraadrenal und ist typisch für ein Phäochromozytom anzusehen. Die gesunden Organanteile sind insgesamt von der Echogenität etwas echoärmer und liegen magenwandnah. Es lassen sich sowohl ca. 5 mm Corpus als auch ca. 12 mm lateraler Schenkel vom Tumor nach cranial bzw. kaudal abgehend darstellen, die operativ belassen werden könnten. Ggf. kann auch der Tumor vom Organhilus, der am Tumor zur Magenwand hinklebt, abpräpariert werden.

Unmittelbar dorsal der V. cava inferior in der rechten Nebennierenloge stellt sich ein maximal 58 x 53 mm messender Tumor dar, der die gleichen Charakteristika wie der linksseitige aufweist. Im ventralen, medialen und lateralen Anteil der Raumforderung lässt sich kein normales

Nebennierengewebe einstellen. Dorsal/somit sehr schallkopffern und in nicht mehr optimaler Auflösungsqualität findet sich ein Zipfelchen (ca. 1 cm) echoarmes Gewebe, wahrscheinlich dem Tumor anhängendes Nebennierengewebe, so dass es sich auch hier wahrscheinlich um ein adrenales Phäochromozytom handelt. Dieses Zipfelchen, das ggf. auch operativ erhalten werden kann, liegt zwischen der Niere und der Wirbelsäule.

Die Phäochromozytome beider Nebennieren sind gut abgegrenzt, endosonographisch kein Nachweis eines invasiven Wachstums. Beim Rückzug des Gerätes stellen sich im Lig. hepato-duodenale einzelne bis 1 cm messende Knoten, wahrscheinlich Lymphknoten, dar. Medial der Pfortader findet sich ein nicht ganz scharf begrenzter heterogener, überwiegend aber eher echoarmer, ca. 14 x 13 mm messender Knoten dar, der eine weitergehende präoperative Abklärung bedarf.

MIBG-Szintigraphie: Der Befund ist vereinbar mit Phäochromozytomen in beiden Nebennieren. Kein Hinweis für pathologische extraadrenale Herde. Nahezu fehlende Aktivitätsbelegung im Bereich des Myokards, die fehlende Aktivitätsbelegung deutet auf deutlich erhöhte Katecholamin-Spiegel.

Abdominelles MRT:

1. Nebennieren-Raumforderungen beidseits: rechts: 5,7 x 5 x 4,9 cm, links: 5,4 x 4,5 x 3,5 cm. Beide Raumforderungen weisen in T2w eher ein intermediäres Signalmuster auf, beide aber mit starkem KM Enhancement und erkennbaren zentralen Nekrosen (rechts >links).
2. Die Raumforderungen zum umgebenden Gewebe gut abgrenzbar ohne erkennbare Infiltration von Nachbarstrukturen.
3. Paraaortal links knapp über 1 cm größer am ehesten unspezifischer Lymphknoten. Des Weiteren hinter der Pfortader gelegen fast keilförmig imponierende hyperintense Läsion als Korrelat zur Endosonographie, bei negativer Szintigraphie am ehesten unspezifischer Lymphknoten Keine weiteren suspekten Lymphknoten abgrenzbar.

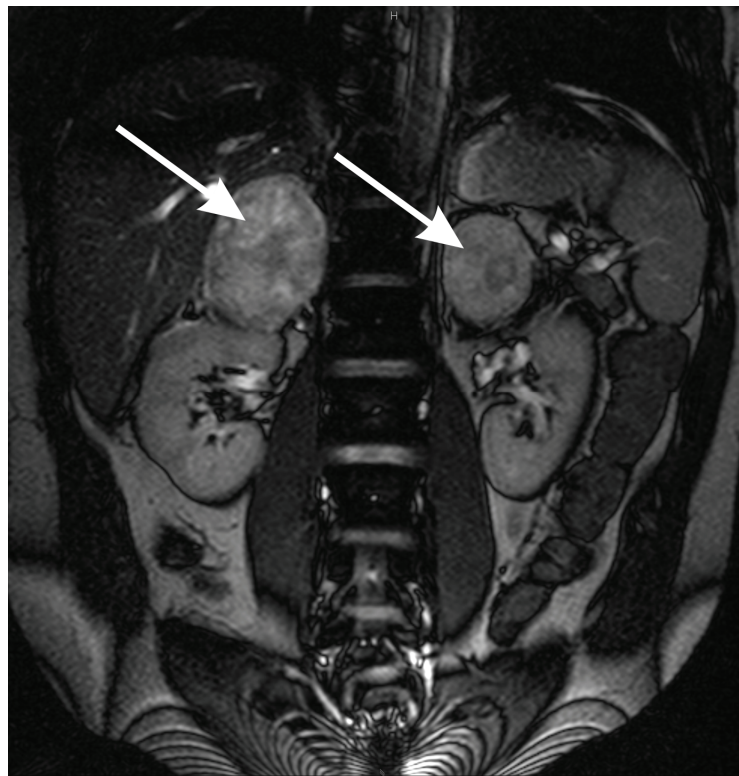


Abbildung 3.7: MRT Befund. Die Pfeile zeigen auf die beidseitigen Phäochromozytomen.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	163,66 µg/d +	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	835,40 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	686,17 µg/d +	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	4.921,60 µg/d +	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	12.316,80 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	38,11 mg/d +	Normwert: 2 - 9 mg/d
Weitere pathologische Laborwerte: Chromogranin A: 94,0 U/l		Normwert: 0 - 50 U/l

Therapie:

- 2005: Subtotale Adrenalektomie rechts (laparoskopisch) unter Erhalt des lateralen Schenkels und subtotale Adrenalektomie links (konventionell-offen, laparoskopisch assistiert) auch unter Erhalt des lateralen Schenkels
- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 6,5 cm groß. Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 6 cm groß. Kein Anhalt für angioinvasives oder gefäßüberschreitendes Wachstum.
- 2006: Thyreoidektomie, zentrale und laterale Lymphknotendissektion beidseits sowie Parathyreoidektomie links unten mit Autotransplantation im linken M. sternocleidomastoideus

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es sowohl laborchemisch als auch bildgebend keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms. Es kam auch zu einer Normalisierung von Chromogranin A und HbA1c-Wert. Trotz subtotaler Adrenalektomie zeigte sich im Verlauf eine persistierende primäre Nebenniereninsuffizienz mit der Notwendigkeit einer Substitutionstherapie mit Hydrokortison.

Die molekulargenetische Untersuchung erbrachte den hochgradigen Verdacht auf eine MEN 2A-Erkrankung. Die bereits präoperativ durchgeführte Diagnostik erbrachte einen erhöhten Calcitonin-Wert (271 pg/ml, Normbereich: <11.5 pg/ml), sonographisch, bildgebend (CT Hals und Thorax) sowie szintigraphisch (Gastrin-Szintigraphie) waren die Befunde vereinbar mit einem C-Zell-Karzinom. Laborchemisch (Parathormon 83 ng/l, Normbereich 11-65 ng/l bei normwertigem Calcium-Wert) und sonographisch (5 mm große echoarme ovaläre Struktur links caudal) zeigte sich ebenfalls ein primärer Hyperparathyreoidismus. Es erfolgte kurzfristig eine operative Thyreoidektomie mit zentraler und lateraler Lymphknotendissektion beidseits sowie eine Parathyreoidektomie links unten mit Autotransplantation im linken M. sternocleidomastoideus. Die histologische Untersuchung erbrachte den Befund eines multifokalen medullären Schilddrüsen-Karzinoms mit 2 zervikalen Lymphknoten-Metastasen (mpT1 pN1a pMx; L0 V0 R0) sowie den Befund eines hyperplastischen Nebenschilddrüse-Gewebe. Postoperativ zeigte sich weiterhin ein leicht erhöhter Calcitonin-Wert von 18,7 pg/ml, so dass der Verdacht auf Mikrometastasen des C-Zell-Karzinoms geäußert wurde. Bildgebend konnte kein wesentliches morphologisches Korrelat eruiert werden. Im weiteren Verlauf zeigte sich ein stabiler Status.

Molekulargenetische Untersuchung:

SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,13:	Normalbefunde
	Exon 11:	Abnormes Bandenmuster in SSCP / DHPLC
		Die Sequenzierung ergab die Mutation: RET Codon 634 TGC>TAC .
		Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634Y .

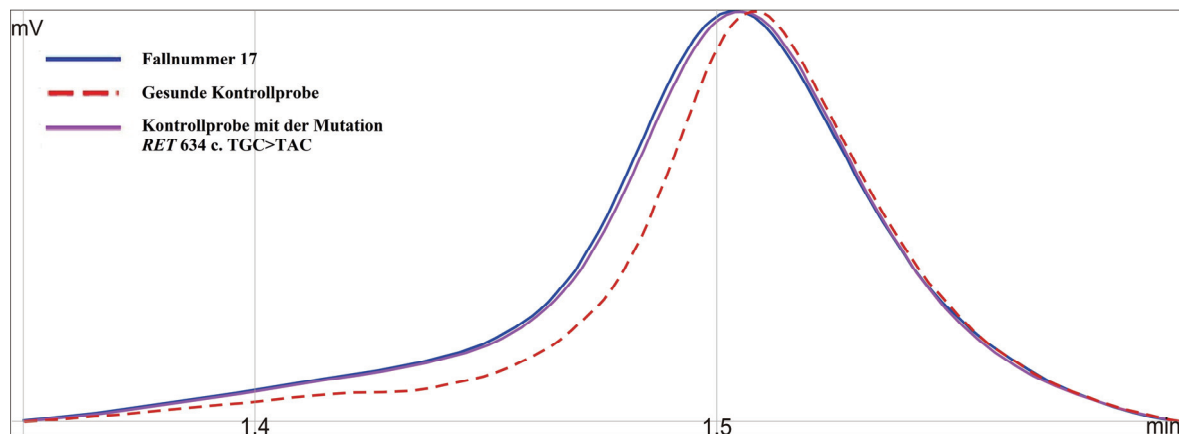


Abbildung 3.8: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 17 zum Chromatogramm einer pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>TAC.

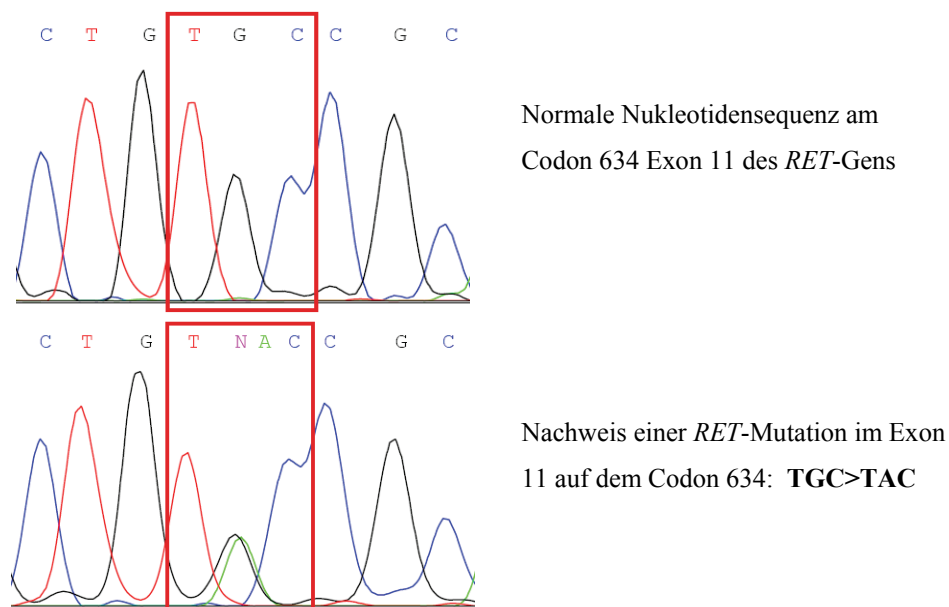


Abbildung 3.9: Sequenzierungsbefund des Patienten mit der Fallnummer 17 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits, jeweils ca. 6 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

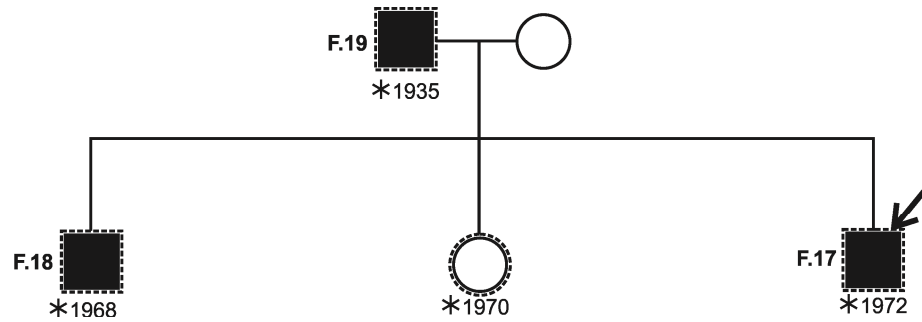
Stammbaum:

Abbildung 3.10: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *RET* C634Y markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf den Indexpatienten.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr

F.17: Fallnummer 17, F.18: Fallnummer 18, F.19: Fallnummer 19 der Marburger Studie

Fallnummer 18:

Initialen: H.M.
Geschlecht: männlich

Geburtsjahr: 1968
Jahr der Operation: 2006

Anamnese:

Der Patient hat sich ärztlich vorgestellt, nachdem bei seinem Bruder (Fallnummer 17) eine MEN 2A-Erkrankung diagnostiziert wurde. Bei Aufnahme berichtete der Patient lediglich über seit ca. 6 Jahren intermittierend auftretende Gesichtsblasser, Blutdruckerhöhungen wurden allerdings nie verzeichnet.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Bereich der rechten Nebenniere zeigen sich 2 (hantelförmig) miteinander verbundene Formationen mit einem kumulativen Durchmesser von 4,3 x 1,4 cm. Im Bereich der linken Nebenniere findet sich bei schlechten Untersuchungsbedingungen eine im Durchmesser von 18 mm betragende echoarme Formation.

Abdominelles MRT:

1. Zwei (1,9 x 1,4 cm sowie 1,8 x 2,2 cm) Raumforderungen der rechten Nebenniere. Signalcharakteristika: In T2w und T1w inhomogen mit flauen hyperintensiven Arealen und geringem KM-Enhancement. Von welchem Schenkel ausgehend ist nicht eindeutig identifizierbar.
2. Zwei (1,5 x 1,5 cm sowie 1,1 x 1,4 cm) Raumforderungen der linken Nebenniere mit ähnlichen Signalcharakteristika und etwas stärkerer KM-Aufnahme vom medialen Schenkel ausgehend, wobei eine der Raumforderungen weit nach laterokaudal reicht, der laterale Schenkel ist normal konfiguriert.
3. Pathologisch vergrößerte, mesenteriale Lymphknoten mit deutlichem KM-Enhancement, maximale Größe 1,9 x 1,0 cm. Ein weiterer länglicher Lymphknoten mit einem Durchmesser von 9 mm zeigt sich paraaortal links zwischen Aorta und Milzvene.

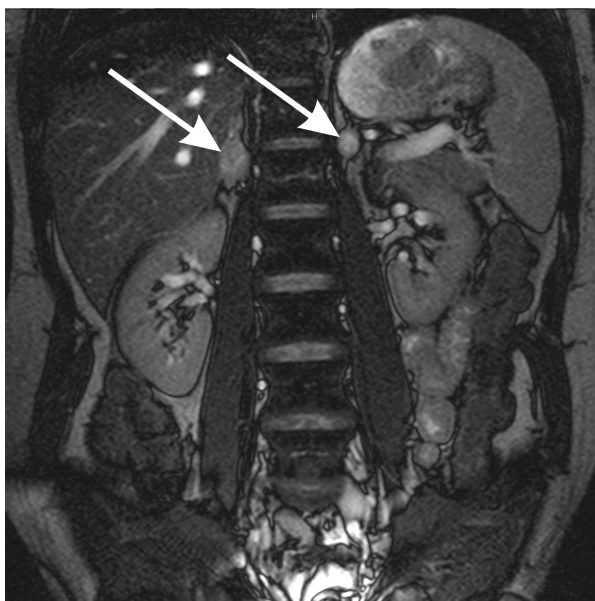


Abbildung 3.11: MRT Befund. Die Pfeile zeigen auf die beidseitigen Phäochromozytomen.

MIBG-Szintigraphie: In der SPECT-Aufnahme lassen sich symmetrische Nebennieren mit deutlicher Aktivitätsakkumulation nachweisen. Diese liegen am ehesten im oberen Normbereich. Keine pathologische Speicherung außerhalb des physiologischen Speicherungsverhaltens mit Ausnahme des rechten oberen Schilddrüsenpols. Zusammengefasst, MIBG-speichernde Nebennieren beidseits, szintigraphisch vereinbar mit intensiver, noch physiologischer Speicherung. Mehrbelegung rechts cranialer Schilddrüsenpol, hier Verdacht auf C-Zell-Karzinom.

Endosonographie: Endosonographisch zeigten sich multiple beidseitige Nebennierenraumforderungen (vier links, fünf rechts) im Sinne von Phäochromozytomen, mit linksseitig zwei verdächtigen Lymphknoten. Im Rahmen der operativen Therapie könnten dem endosonographischen Aspekt nach der laterale Schenkel und Corpus der linken Nebenniere und der laterale Schenkel der rechten Nebenniere erhalten werden.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	86,41 µg/d +	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	160,37 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	345,29 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	2.703,11 µg/d +	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	1.438,48 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	8,57 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d
Weitere Laborwerte:	Chromogranin A: 45,0 U/l	Normwert: 0 - 50 U/

Clonidin Test:

	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):	Dopamin (EDTA)
Min -30:	83 ng/l	378 ng/l	< 30 ng/l
Min 0:	151 ng/l	456 ng/l	< 30 ng/l
Min 180:	134 ng/l	285 ng/l	< 30 ng/l

Beurteilung: Formal normaler Clonidin Test, ggf. Ausdruck geringer Tumormasse.

Therapie:

- 2006: Thyreoidektomie mit zentraler und lateraler Lymphknotendisektion beidseits mit Resektion und Reanastomosierung des rechtsseitigen N. recurrens
 - Histologie: multifokales C-Zell-Karzinom, multiple Lymphknoten-Metastasen, mpT2 pN1b pMx; L0 V1
- 2006: Subtotale Adrenalectomie rechts (laparoskopisch) unter Erhalt des lateralen Schenkels und subtotale Adrenalectomie links (konventionell-offen, laparoskopisch assistiert) unter Erhalt des lateralen Schenkels, sowie Lymphknoten-Exstirpation im Bereich der Nierenvene und paraaortal links
 - Histologie: bilaterales adrenales Phäochromozytom, jeweils ca. 2 cm groß.
- 2007: Selektive Neck dissection Level II rechts bei Halslymphknotenmetastase des C-Zell-Karzinoms sowie Punktion einer unklaren Raumforderung des M. masseter rechts
 - Histologie: zytologisch nicht verwertbares, nahezu zellfreies Punktat
- 2007: Erneute Lymphknotenexstirpation cervical rechts
 - Histologie: Halslymphknotenmetastase des bek. C-Zell-Karzinoms

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es sowohl laborchemisch als auch bildgebend keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms. Es zeigte sich im Verlauf eine persistierende primäre Nebenniereninsuffizienz mit der Notwendigkeit einer Substitutionstherapie mit Hydrokortison.

Postoperativ nach Thyreoidektomie zeigte sich weiterhin ein erhöhter Calcitonin-Wert von 411,0 pg/ml (Normbereich: - 8,4 pg/ml). Bei Verdacht auf Halslymphknotenmetastase des C-Zell-Karzinoms im MRT-Hals erfolgten eine selektive Neck-dissektion Level II rechts mit intraoperativer Punktion einer unklaren Raumforderung des M. masseter rechts sowie einige Monate später eine erneute Lymphknoten-Exstirpation cervical rechts.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET Exon 11: Dasselbe abnorme Bandenmuster in SSCP / DHPLC wie bei seinem Bruder.

Dies entspricht der Mutation: **RET Codon 634 TGC>TAC**.

Konsequenz auf Aminosäureebene: **p. C634Y**.

Kommentar: Da in der Familie bereits eine *RET*-Mutation auf Exon 11 bekannt war, wurde in diesem Fall lediglich Exon 11 des *RET*-Gens untersucht.

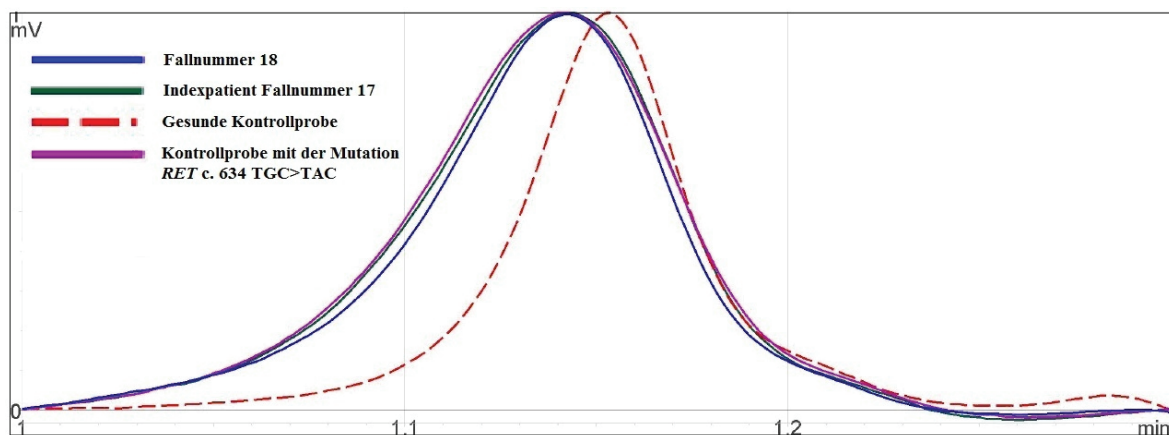


Abbildung 3.12: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 18 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe und zum Chromatogramm des Indexpatienten mit der Fallnummer 17 spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>TAC.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits, jeweils ca. 2 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Fallnummer 19:**Initialen:** H.M.**Geburtsjahr:** 1935**Geschlecht:** männlich**Jahr der Diagnose:** 2006**Anamnese:**

Der Patient stellte sich ärztlich vor, nachdem bei beiden Söhnen (Fallnummer 17 und 18) eine MEN 2A-Erkrankung diagnostiziert wurde. Bei Aufnahme berichtete der Patient lediglich über eine vorbekannte arterielle Hypertonie, subjektiv war er aber beschwerdefrei.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Nebennieren von transabdominell ohne Auffälligkeiten.

Abdominelles MRT: Beidseits knotig vergrößerte Nebennieren (rechts 13 mm, links 21 mm Durchmesser).

In der In-Phase/Opposed-Phase Sequenz beidseits weniger als 50% Fettanteil rechts >> links.

Befund vereinbar mit Phäochromozytom.

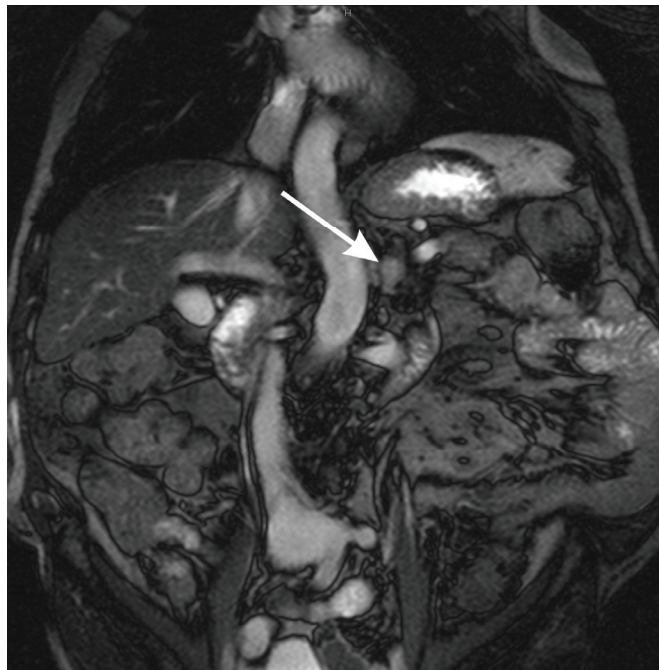


Abbildung 3.13: MRT Befund. Der Pfeil zeigt auf das linke Phäochromozytom

MIBG-Szintigraphie: Rechtsseitig unauffällige MIBG-Anreicherung mit zwei darstellbaren Nebennieren, jedoch nicht außerhalb des physiologischen Rahmens. Links finden sich zwei stark speichernde Herde. Wir empfehlen hier den Abgleich mit der morphologischen Bildgebung.

Endosonographie: Die linke Nebenniere trägt ausgehend vom Hilus / proximalen Corpus nach medial eine peripher echoarme, zentral partiell echoreiche, kapsulär begrenzte Raumforderung, allenfalls in den Randbereichen im Vergleich zur restlichen Nebenniere gering hyperperfundiert, 14 x 11 mm messend, gut passend zu einem kleinen Phäochromozytom, wobei die benachbarten Organanteile ebenfalls plump mit einem breiten Markecho imponieren. Zwischen Nebenniere und Aorta Darstellung eines 21 x 7 mm messenden nodulären, echoarmen, zentral echoreichen Befundes, z.B. zu einem unspezifischen Lymphknoten passend, DD im Rahmen der Grunderkrankung. In der rechten Nebenniere grenzt sich zentral eine rundliche, 16 x 14 mm messende Formation, mäßig

inhomogen mit einer mehrere mm großen zentralen Verkalkung ab, wobei eine kapsuläre Begrenzung nicht zweifelsfrei in allen Projektionen zu sehen ist, so dass DD neben einem Phäochromozytom auch eine Markhyperplasie zu erwägen bleibt. Kein Nachweis weiterer Pathologika in der rechten Nebenniere. Im Lig. hepato-duodenale stellen sich zwei wohl unspezifische, zentral echoreiche, flache, 22 x 4 bzw. 20 x 4 mm messende Lymphknoten dar.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	5,71 µg/d	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	21,49 µg/d	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	89,75 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	167,18 µg/d	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	126,72 µg/d	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	1,60 mg/d -	Normwert: 3 - 7 mg/d
Weitere Laborwerte: Chromogranin A:	9,0 U/l	Normwert: 0 - 50 U/

Clonidin Test:

Unauffälliges Testergebnis bei basalem Noradrenalin bereits im Normbereich.

Therapie:

Die gesamte Befundkonstellation sprach für eine MEN 2A-Erkrankung mit dem Vorliegen eines C-Zell-Karzinoms (Calcitonin: 1112 pg/ml, Normbereich: <11,5 pg/ml, positiver sonographischer Befund und positive Gastrin-Szintigraphie), eines primären Hyperparathyreoidismus (Parathormon: 147 ng/l, Normbereich: 11-65 ng/l, Calcium: max. 2,8 mmol/l, Normbereich: 2,2-2,7 mmol/l und positiver sonographischer Befund) sowie mit dem hochgradigen Verdacht auf Phäochromozytome beidseits. In Anbetracht des fortgeschrittenen Lebensalters, der Symptomfreiheit des Patienten und des subklinischen Phäochromozytoms wurde auf eine operative Behandlung der drei MEN 2-Manifestationen verzichtet.

Verlauf:

Unter antihypertensiver Therapie mit Alpha-Blockade mit Dibenzyran (Zieldosis 3 x 10 mg/d) und danach alleiniger Therapie mit Vesdil 5mg 0-0-0-1 konnten normotensive Werte erreicht werden. Jährliche Verlaufskontrollen erbrachten laborchemisch und bildmorphologisch einen konstanten Befund.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 11:	Dasselbe abnorme Bandenmuster in SSCP/DHPLC wie bei seinen Söhnen. Dies entspricht der Mutation: RET Codon 634 TGC>TAC. Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634Y.
------------	----------	--

Kommentar: Da in der Familie bereits eine *RET*-Mutation auf Exon 11 bekannt war, wurde in diesem Fall lediglich Exon 11 des *RET*-Gens untersucht.

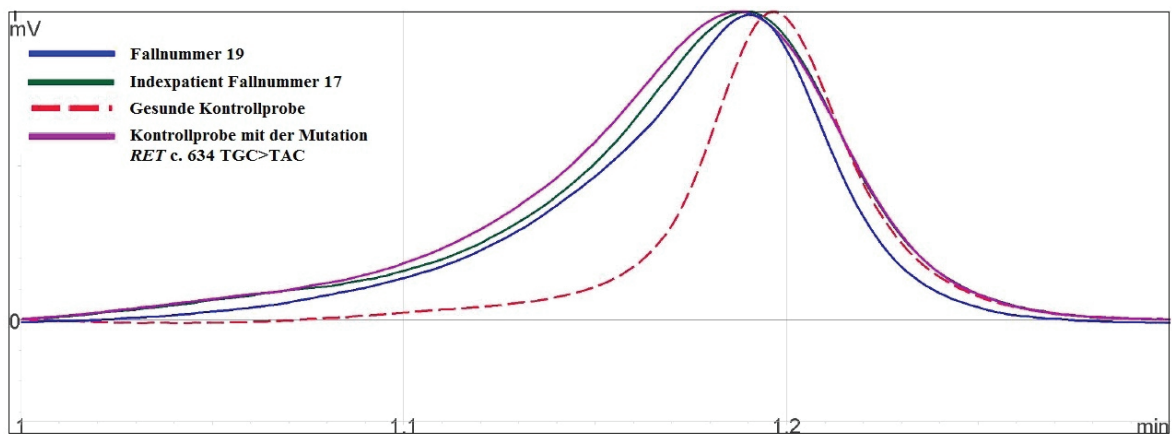


Abbildung 3.14: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 19 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe und zum Chromatogramm des Indexpatienten mit der Fallnummer 17 spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>TAC.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits, jeweils ca. 1,5 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Fallnummer 20:**Initialen:** S.V.**Geburtsjahr:** 1968**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 1993, 1999**Anamnese:**

Im Alter von 13 Jahren erfolgte beim Patienten eine totale Thyreoidektomie bei C-Zell-Karzinom. Im Jahr 1993 fiel im Rahmen der regelmäßigen Nachsorge eine Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere auf. Klinisch berichtete der Patient über Schweißneigung auch bei leichter Belastung, allgemeine Unruhe und Einschlafstörungen.

Familienanamnese:

Am Anfang gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese. Bekannt war lediglich, dass die Großmutter des Patienten im Jahr 1962 an einem Schilddrüsenkarzinom verstorben war. Im Verlauf wurden weitere Angehörige mit MEN 2A-Syndrom diagnostiziert. Ein Stammbaum wurde erstellt.

Diagnostik und Befunde:**Sonographie:**

1993: Im Bereich der rechten Nebennierenregion kleine im Durchmesser 2,6 cm betragende echodichte Formation wie bei Tumor. Linke Nebennierenregion, soweit einsehbar, unauffällig.

Abdominelles CT:

1993: Hypodense Raumforderung in der rechten Nebennierenloge mit einem Durchmesser von ca. 2,5 cm. Unauffällige Darstellung der linken Nebenniere.

Abdominelles MRT:

1999: Nebennierentumor links von bis zu 2,5 cm Durchmesser, glatte Begrenzung, Lokalisation kaudo-ventral des vorderen Nebennierenschenkels. Kräftige Anreicherung in der dynamischen Sequenz im Sinne eines soliden Tumors, der im „chemical shift imaging“ eine prozentuale Signalintensitätsänderung um weniger als 5% aufweist. Suszeptibilitätsartefakte in der rechten Nebennierenloge. Kein Hinweis auf Rezidiv des Nebennierentumors rechts.

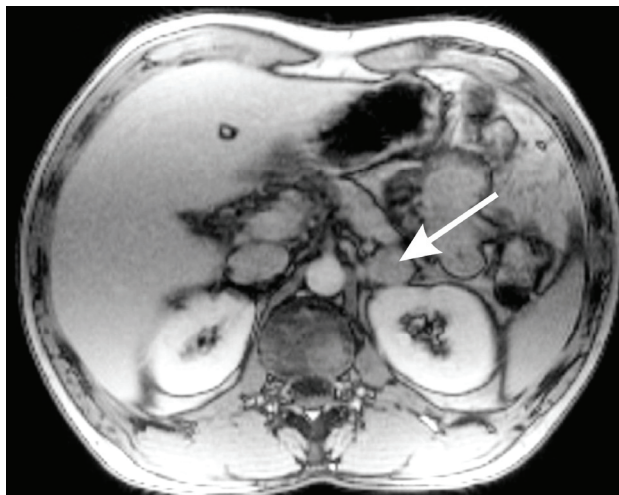


Abbildung 3.15: MRT Befund. Der Pfeil zeigt auf das linke Phäochromozytom.

MIBG-Szintigraphie:

1993: Auffällig ist ein Bezirk mit deutlich vermehrter Nuklidanreicherung in Sicht auf einen Bezirk dicht oberhalb des rechten Nierenpols. Der Befund ist vereinbar mit einem Phäochromozytom rechts.

1999: Auffällig ist nach 4 Stunden ein Bezirk mit mäßig vermehrter Nuklidanreicherung, der sich oberhalb des linken Nierenpols projiziert. Nach 24 Stunden findet sich eine deutlich vermehrte Anreicherung in dieser Region. Der Befund ist vereinbar mit einem Phäochromozytom links.

Katecholamine-Bestimmung:

1993:	Adrenalin im Urin:	erhöht*	Normwert: 3 - 20 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	erhöht*	Normwert: 15 - 105 µg/d
	Dopamin im Urin:	normal*	Normwert: 67 - 460 µg/d
	VMA im Urin:	erhöht*	Normwert: 1 - 2,5 mg/d

* Die genauen Werte waren nicht auffindbar. Die Angaben „normal“ und „erhöht“ ergaben sich aus den Arztberichten.

1999:	Adrenalin im Urin:	55,13 µg/d +	Normwert: 3 - 20 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	627,98 µg/d +	Normwert: 15 - 105 µg/d
	Dopamin im Urin:	309,93 µg/d	Normwert: 67 - 460 µg/d
	VMA im Urin:	3,17 mg/d	Normwert: 3 - 7 mg/d

Therapie:

1982: Totale Thyreoidektomie bei C-Zell-Karzinom

1993: Totale Adrenalektomie rechts (laparoskopisch)

- Histologie: Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 2 cm groß, ohne Anhalt für Malignität.

1999: Subtotale Adrenalektomie links (laparoskopisch)

- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 3 cm groß, ohne Anhalt für Malignität.

Verlauf:

Im Jahr 2002 gab es wieder eine erhöhte Katecholaminausscheidung (vor allem Noradrenalin), weswegen eine MIBG-Szintigraphie und ein CT des Abdomens veranlasst wurden. Trotz positivem MIBG-Scan in Sicht auf die linke Nebenniere sowie paraaortal gab es im CT keinen Anhalt für ein Phäochromozytomrezidiv oder ein Paragangliom. Es wurde daraufhin bei beschwerdefreiem Patienten eine abwartende Haltung beschlossen. Die pathologisch gemessenen Normetanephrin-Werte blieben im Verlauf stabil hoch. Im Jahr 2008 erfolgte eine erneute MIBG-Szintigraphie, die allerdings einen Normalbefund gezeigt hat. Weitere Verlaufskontrollen wurden empfohlen. Eine initiale Substitutionstherapie mit Hydrokortison konnte im Verlauf abgesetzt werden.

Calcitonin-Werte knapp oberhalb der Nachweisbarkeitsgrenze und eine Stimulierbarkeit des Calcitonin-Spiegels bis auf das 13-fache des Ausgangswertes im Rahmen von Pentagastrinstimulationstesten sprachen postoperativ für eine minimale Menge an verbliebenem neoplastischen C-Zell-Gewebe. Sonographisch hat sich zu keinem Zeitpunkt ein Hinweis auf ein fassbares Tumorrezidiv ergeben.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 10,13:	Normalbefunde
	Exon 11:	Abnormes Bandenmuster in SSCP / DHPLC
		Die Sequenzierung ergab die Mutation: RET Codon 634 TGC>CGC .
		Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634R .

Kommentar: Zum Zeitpunkt der genetischen Untersuchung war klinisch das MEN 2A-Syndrom bereits bekannt.

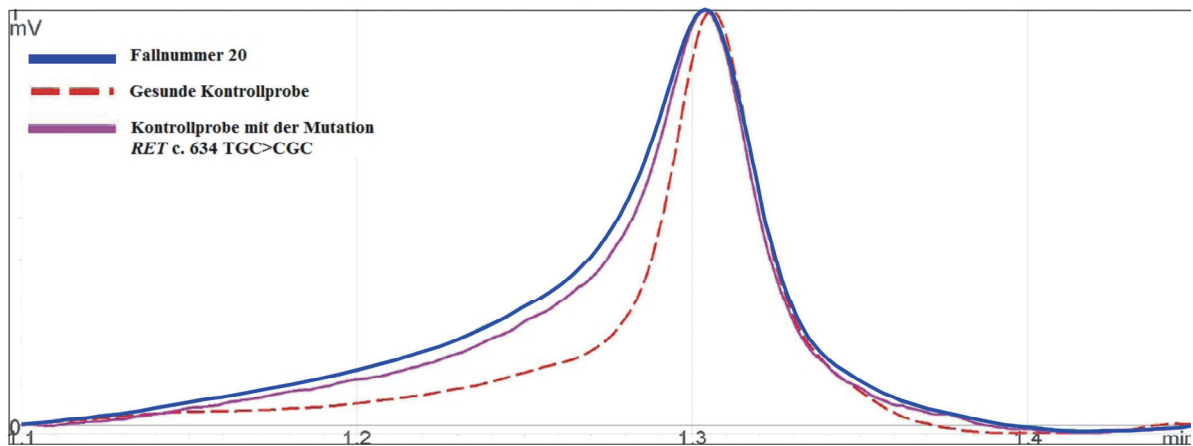


Abbildung 3.16: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 20 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

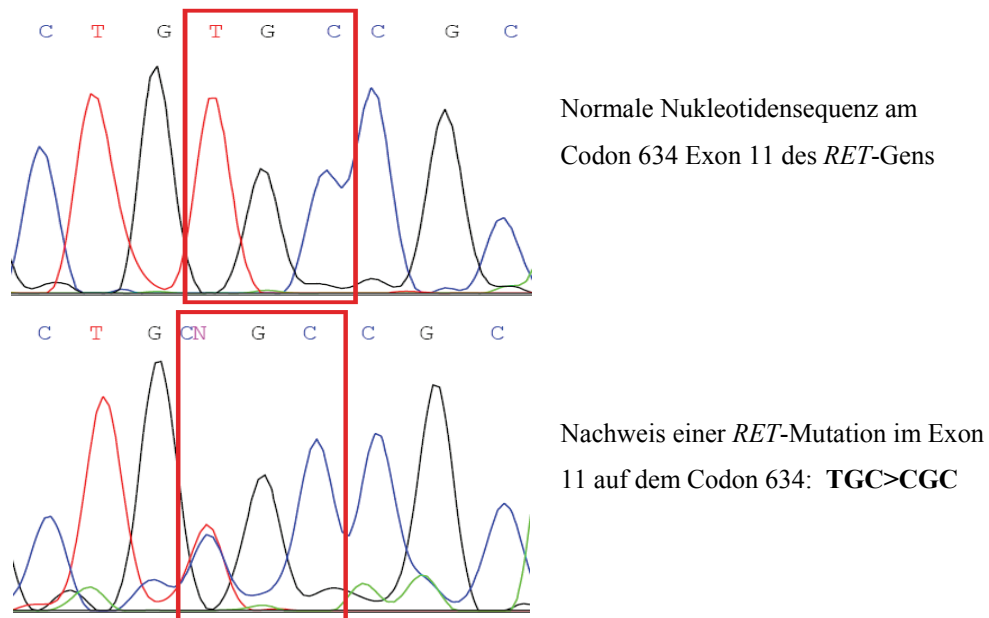


Abbildung 3.17: Sequenzierungsbefund des Patienten mit der Fallnummer 20 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits, jeweils ca. 2,5 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

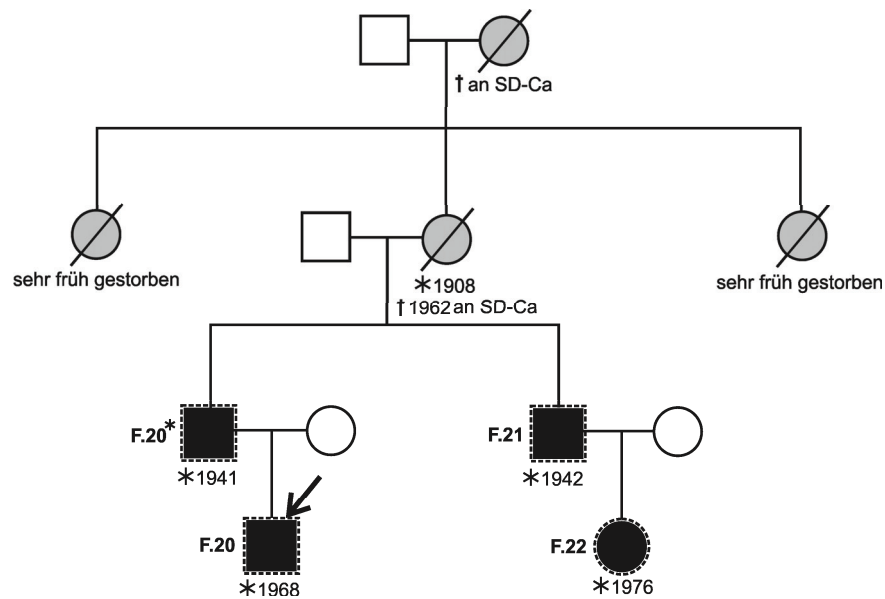
Stammbaum:

Abbildung 3.18: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *RET* C634R markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen und mit grau die Angehörigen, bei denen die Erkrankung vermutet aber nicht gesichert war. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf den Indexpatienten.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr, †: Todesjahr, Schrägstrich bedeutet verstorben

F.20: Fallnummer 20, F.20*: Fallnummer 20*, F.21: Fallnummer 21, F.22: Fallnummer 22 der Marburger Studie

Fallnummer 20* (Vater des Patienten mit der Fallnummer 20):**(trotz Mutation kein nachweisbares Phäochromozytom)****Initialen:** S.H.**Geburtsjahr:** 1941**Geschlecht:** männlich**Jahr der Diagnose:** -**Anamnese:**

Beim Patienten wurden regelmässig Screening Untersuchungen auf familiäres C-Zell-Karzinom durchgeführt, nachdem die Mutter des Patienten im Jahr 1962 an einem Schilddrüsenkarzinom verstorben war, und einer seiner Söhne (Indexpatient, Fallnummer 20) im Jahr 1982 wegen eines klinisch manifesten C-Zell-Karzinoms thyreoidektomiert wurde. 1982 wurden beim Patienten bei normalen basalen Kalzitroninkonzentrationen pathologisch stimulierbare Kalzitroninwerte im Pentagastrintest gemessen. Zu diesem Zeitpunkt gab es keinen Hinweis für das Vorliegen eines Phäochromozytoms.

Therapie:

1982: Totale Thyreoidektomie, zentrale Lymphknotendissektion und Lymphadenektomie der mittleren Jugularisgruppe links bei C-Zell-Karzinom

- Histologie: C-Zell-Karzinom, pT1-2 pN1-2 M0

Verlauf:

Im Verlauf kam es zu einem diskret stimulierbaren Kalzitroninspiegel im Pentagastrintest, vereinbar mit einer geringen Menge verbliebener C-Zell-Masse. Hieraus ergaben sich jedoch keine therapeutischen Konsequenzen. Der Befund blieb über die Jahre konstant.

Seit der Diagnosestellung im Jahr 1982 befand sich der Patient jährlich in der Kontrolle. Es gab zu keinem Zeitpunkt einen Hinweis auf ein Phäochromozytom, weder durch Bestimmung der Katecholamine im 24-Stunden-Sammelurin noch sonographisch.

Molekulargenetische Untersuchung:**RET**

Exon 11:

Dasselbe abnorme Bandenmuster in SSCP/DHPLC wie bei seinem Sohn.

Dies entspricht der Mutation: **RET Codon 634 TGC>CGC.**

Konsequenz auf Aminosäureebene: **p. C634R.**

Kommentar: Da in der Familie bereits eine *RET*-Mutation auf Exon 11 bekannt war, wurde in diesem Fall lediglich Exon 11 des *RET*-Gens untersucht.

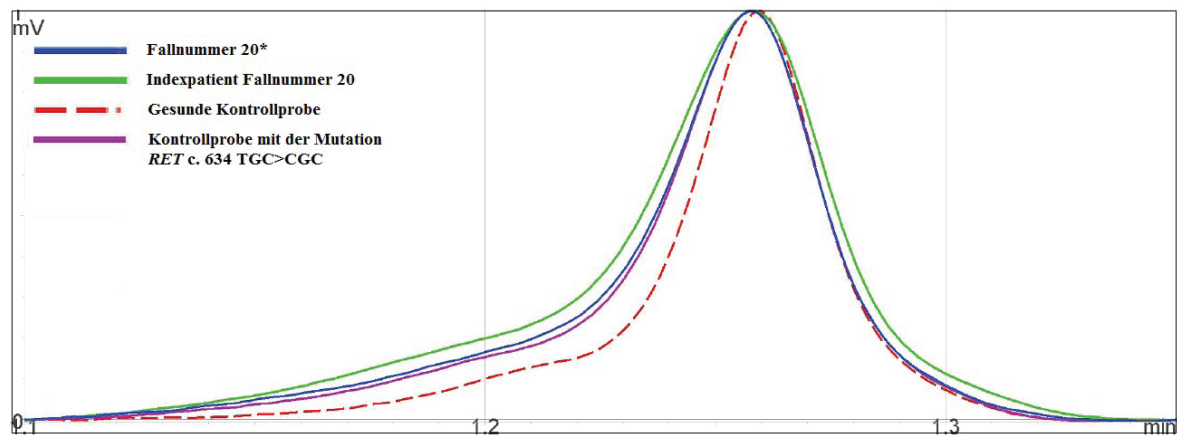


Abbildung 3.19: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 20* zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe und zum Chromatogramm des Indexpatienten mit der Fallnummer 20 spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

Diagnose:

MEN 2A-Syndrom mit Z.n. totaler Thyreoidektomie bei C-Zell-Karzinom 1982

- kein Hinweis auf ein Phäochromozytom

Fallnummer 21:**Initialen:** S.K.H.**Geburtsjahr:** 1942**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 1982**Anamnese:**

Im Rahmen des im Jahr 1982 durchgeführten Familienscreenings bei in der Familie bekanntem MEN 2A-Syndrom fielen beim Patienten bei grenzwertigem basalem Kalzitinin pathologisch ansteigende Kalzitoninkonzentrationen nach Stimulation im Pentagastrintest auf. Der Befund war somit mit einem C-Zell-Karzinom vereinbar. Bei der Diagnosestellung waren in der Familie der Neffe (Indexpatient, Fallnummer 20) und der Bruder (Fallnummer 20*) mit MEN 2A-Erkrankung bekannt. In der im Rahmen des Screenings durchgeführten Ultraschalluntersuchung fiel ebenfalls eine Raumforderung der rechten Nebenniere auf, vereinbar mit einem Phäochromozytom. Zu diesem Zeitpunkt war der Patient subjektiv beschwerdefrei. Retrospektiv konnte eine im Jahr 1976 unter dem Verdacht auf das Vorliegen einer Myokarditis aufgetretene Symptomatik mit anfallweise auftretenden Herzrhythmusstörungen mit Druckgefühl und Kopfschmerzen sowie Bläßwerden von Gesicht und Händen von jeweils 2 Minuten Dauer wahrscheinlich als Ausdruck der Phäochromozytomerkrankung gedeutet werden.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Ein ca. 6 cm im Durchmesser haltender partiell zystischer Tumor der rechten Nebenniere.

Abdominelles CT: Eine ca. 5 cm große, teilweise zystisch umgewandelte Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere.

MIBG-Szintigraphie: Typische Anreicherung im Bereich der rechten Nebenniere, vereinbar mit einem Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Katecholamine im Urin:	mehrfach kontrolliert, jedes Mal normwertig	
Adrenalin im Plasma:	220 ng/l +	Normwert: - 140 ng/l
Noradrenalin im Plasma:	806 ng/l +	Normwert: - 470 ng/l

Therapie:

1982: Adrenalektomie rechts (konventionell-offen)

- Histologie: Zystisch degeneriertes Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 6 cm im Durchmesser.

1982: Totale Thyreoidektomie, zentrale zervikale und obere mediastinale Lymphknotendissektion sowie Epithelkörperchenbiopsie

- Histologie: Bilaterales C-Zell-Karzinom mit Amyloidbildung in den dorsalen Anteilen beider Schilddrüsenlappen, links mit maximalem Durchmesser von 1,2 cm, rechts von maximalem 5 mm Durchmesser, p T3 N0 M0. Intrathyreoidales hyperplastisches Epithelkörperchen im rechten Schilddrüsenlappen. Biopat des linken oberen Epithelkörperchens mit Zeichen der Hyperplasie.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf wies der Patient eine Neigung zu Tachykardien auf. Im Rahmen der jährlichen Kontrollen fielen leicht erhöhte Katecholamine im Urin und Plasma auf, eine bildgebende Diagnostik mittels Ultraschall und CT erbrachte allerdings kein Korrelat hinsichtlich eines Phäochromozytoms links oder eines Phäochromozytomrezidivs rechts.

Im Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des C-Zell-Karzinoms. Seit 2002 entwickelte der Patient jedoch einen milden primären Hyperparathyreoidismus auf dem Boden von zwei verbliebenen hyperplastischen Epithelkörperchen. Da der Patient diesbezüglich asymptomatisch war und bei Z.n. Thyreoidektomie für eine erneute Operation am Hals ein erhöhtes Risiko bestand, wurde zunächst auf ein operatives Eingreifen verzichtet.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 11:	Dasselbe abnorme Bandenmuster in SSCP/DHPLC wie beim Indexpatienten (Fallnummer 20). Dies entspricht der Mutation: RET Codon 634 TGC>CGC . Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634R .
------------	----------	--

Kommentar: Da in der Familie bereits eine *RET*-Mutation auf Exon 11 bekannt war, wurde in diesem Fall lediglich Exon 11 des *RET*-Gens untersucht.

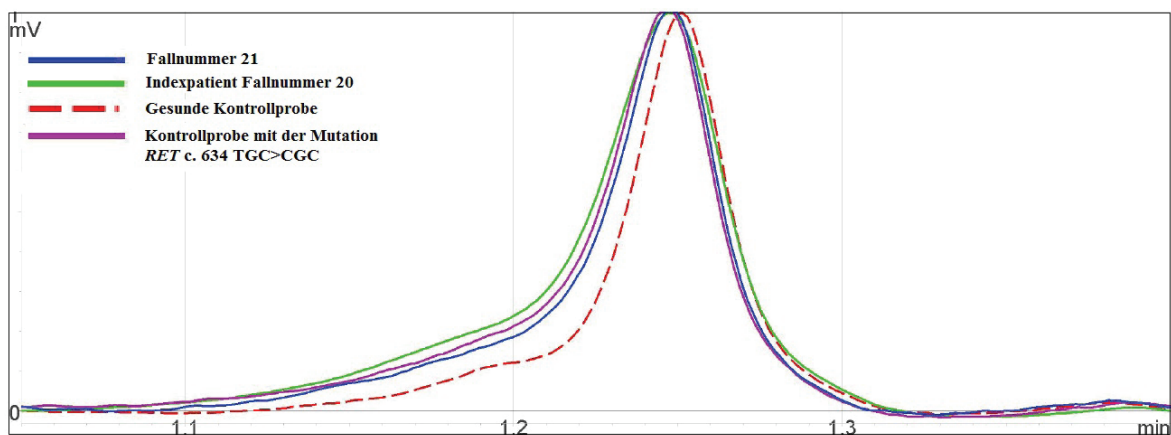


Abbildung 3.20: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 21 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe und zum Chromatogramm des Indexpatienten mit der Fallnummer 20 spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 6 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Fallnummer 22:**Initialen:** S.A.**Geburtsjahr:** 1976**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2002**Anamnese:**

Die Patientin ist Mitglied einer MEN 2A-Familie und wurde als Genträgerin im Jahr 1983 prophylaktisch thyreoidektomiert. Bei der Diagnosestellung waren in der Familie der Cousin (Indexpatient, Fallnummer 20), der Onkel (Fallnummer 20*) und der Vater (Fallnummer 21) mit MEN 2A-Erkrankung bekannt. Im Rahmen der jährlichen Kontrollen fiel im Jahr 2001 eine erhöhte Katecholaminausscheidung auf. Zu diesem Zeitpunkt war die Patientin klinisch beschwerdefrei.

Diagnostik und Befunde:

MIBG-Szintigraphie: Es fand sich eine bilaterale symmetrische Aktivitätsmehrbelegung am ehesten im Bereich beider Nebennierenlogen. Im Einzelphotonenemissionscomputertomogramm erscheinen beide Befunde relativ weit ventral gelegen, so dass nicht mit letzter Sicherheit von Nebennierenprozessen ohne Vergleich mit morphologischer Bildgebung ausgegangen werden kann. Weiterhin findet sich im Bereich des linken Leberlappens ventral gelegen eine fokale Aktivitätsmehrbelegung.

Abdominelles CT: Inhomogene Nebennierenraumforderungen beidseits (rechts: 3,2 x 2,2 cm; links: 3,1 x 2,6 cm). Bei der Anamnese der Patientin entsprechen diese Tumoren am ehesten Phäochromozytomen. Zusätzlich ein weiterer interaortocaval gelegener Tumor.

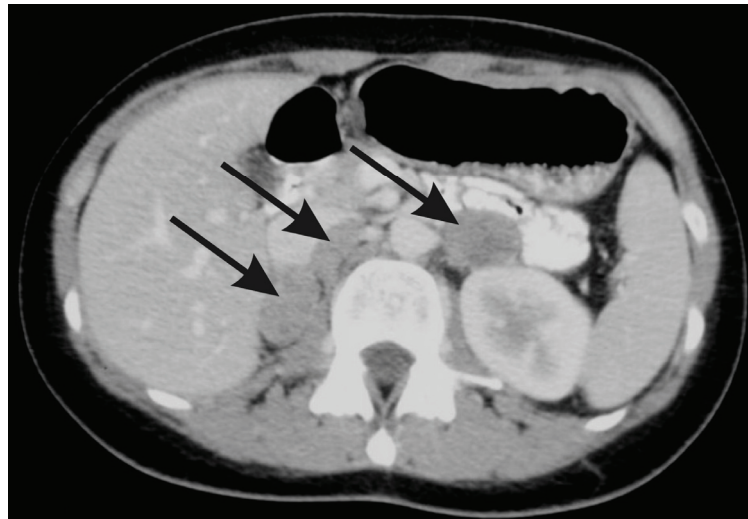


Abbildung 3.21: CT Befund. Die Pfeile zeigen auf das rechte Phäochromozytom, das interaortocavale Pargangliom und das linke Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	13,59 µg/d	Normwert: 3 - 20 µg/d
Noradrenalin im Urin:	38,40 µg/d	Normwert: 15 - 105 µg/d
Dopamin im Urin:	313,45 µg/d	Normwert: 67 - 460 µg/d
Metanephrin im Urin:	1046,64 µg/d +	Normwert: - 300 µg/d
Normetanephrin im Urin:	878,01 µg/d +	Normwert: - 360 µg/d
VMA im Urin:	6,91 mg/d +	Normwert: 3 - 6,5 mg/d

Therapie:

1983: Prophylaktische Thyreoidektomie

2002: Adrenalektomie rechts, partielle Adrenalektomie links und Entfernung eines interaortocavalen Paraganglioms (konventionell-offen)

- Histologie: Bilaterales Phäochromozytom der Nebenniere und ein gleichartiger interaortocavaler Tumor, ca. 3 cm groß, am ehesten einem zusätzlichen extraadrenalen Paragangliom entsprechend.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv der Phäochromozytome, auch keinen Anhalt für ein Rezidiv des C-Zell-Karzinoms.

2002 fiel bei der Patientin ein milder Hyperparathyreoidismus auf. Bei Beschwerdefreiheit und erhöhtem operativem Risiko bei Z.n. Thyreoidektomie, wurde zunächst eine abwartende Haltung favorisiert. Außerdem konnten bildgebend keine Nebenschilddrüsenadenomverdächtigen Areale identifiziert werden. Im weiteren Verlauf hat sich der Hyperparathyreoidismus normalisiert.

Darüber hinaus berichtete die Patientin seit 2002 über eine juckende Hautveränderung an den beiden Seiten des zerviko-thorakalen Übergangs. Die klinische Untersuchung erbrachte den Befund eines kleinpapulösen Exanthems, das am ehesten einem Lichen amyloidosis entsprach.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET

Exon 11:

Dasselbe abnorme Bandenmuster in SSCP/DHPLC wie beim Indexpatienten (Fallnummer 20).

Dies entspricht der Mutation: **RET Codon 634 TGC>CGC**.

Konsequenz auf Aminosäureebene: **p. C634R**.

Kommentar: Da in der Familie bereits eine *RET*-Mutation auf Exon 11 bekannt war, wurde in diesem Fall lediglich Exon 11 des *RET*-Gens untersucht.

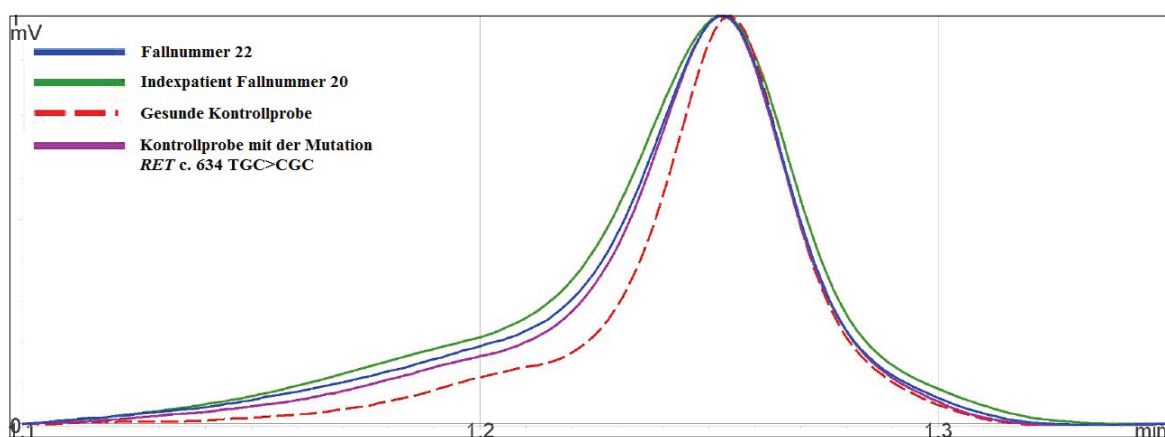


Abbildung 3.22: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 22 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe und zum Chromatogramm des Indexpatienten mit der Fallnummer 20 spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits und interaortocavales Paragangliom, jeweils ca. 3 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Fallnummer 23:**Initialen:** W.M.**Geburtsjahr:** 1943**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2002**Anamnese:**

Die Patientin stellte sich bei Verdacht auf stattgehabte Gallenkolik zur Durchführung einer ambulanten ERCP vor. Die ERCP musste wegen einer während der Untersuchung aufgetretenen Sinustachykardie bis 160 Schläge/min abgebrochen werden, stattdessen wurde eine MRCP veranlasst. Dabei fielen nebenbefundlich unklare Raumforderungen in beiden Nebennierenlogen auf. Bei der Patientin war bereits eine arterielle Hypertonie bekannt, weitere Phäochromozytom-typische Beschwerden wurden von der Patientin verneint.

Familienanamnese:

Am Anfang gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese. Im Verlauf wurden weitere Angehörige mit MEN 2A-Syndrom diagnostiziert. Ein Stammbaum wurde erstellt.

Diagnostik und Befunde:

Abdominelles MRT: Unter Verwendung spezifischer MRT Sequenzen ließ sich im medialen Schenkel der rechten Nebenniere eine 1,9 x 1,5 cm große in T2 deutlich hyperintense Raumforderung identifizieren. Im Bereich der linken Nebenniere zeigte sich ebenfalls eine vom Signalverhalten vergleichbare Raumforderung mit einem Durchmesser von 2 x 2 cm. MR morphologisch handelt es sich hierbei am ehesten um bilaterale Phäochromozytome. Weitere Raumforderungen ließen sich im Untersuchungsvolumen nicht nachweisen.

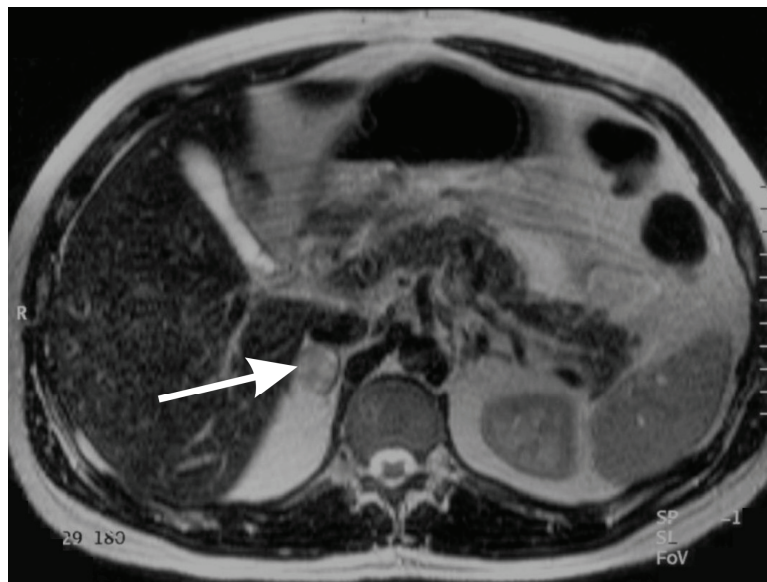


Abbildung 3.23: MRT Befund. Der Pfeil zeigt auf das rechte Phäochromozytom.

MIBG-Szintigraphie: Deutliche, jedoch seitensymmetrische Tracerakkumulation im Bereich beider Nebennieren. Die Speicherintensität geht nicht eindeutig über die der Leber hinaus, so dass dieser Befund durchaus einer physiologischen Darstellung beider Nebennieren entsprechen kann.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	10,44 µg/d	Normwert: 3 - 20 µg/d
Noradrenalin im Urin:	32,83 µg/d	Normwert: 15 - 105 µg/d
Dopamin im Urin:	61,62 µg/d -	Normwert: 67 - 460 µg/d
Metanephrin im Urin:	745,00 µg/d +	Normwert: - 300 µg/d
Normetanephrin im Urin:	590,52 µg/d +	Normwert: - 360 µg/d

Therapie:

- 2002: Totale Adrenalektomie links und subtotale Adrenalektomie rechts (konventionell-offen)
- Histologie: Bilaterales Phäochromozytom, jeweils ca. 2 cm groß.
- 2002: Re-Exploration des Halses mit Restthyreoidektomie (Z.n. subtotaler Thyreoidektomie 1978 bei Struma nodosa), totaler Parathyreoidektomie und zervikaler Thymektomie
- Histologie: Medulläres Schilddrüsenkarzinom links von 0,5 cm Größe, auf die Schilddrüse beschränkt, p T1 N0 M0. Anteile eines proliferierten und aktivierten Epithelkörperchens rechts oben, rechts unten und links unten.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv der Phäochromozytome, des C-Zell-Karzinoms oder des Hyperparathyreoidismus.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 10,13:	Normalbefunde
	Exon 11:	Abnormes Bandenmuster in SSCP / DHPLC
		Die Sequenzierung ergab die Mutation: RET Codon 634 TGC>CGC.
		Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634R.

Kommentar: Zum Zeitpunkt der genetischen Untersuchung war klinisch das MEN 2A-Syndrom bereits bekannt.

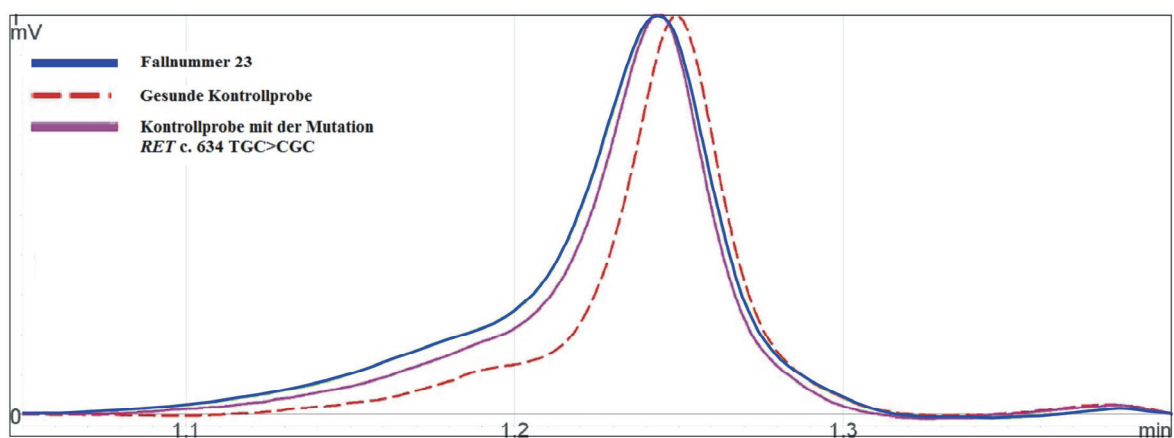


Abbildung 3.24: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 23 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

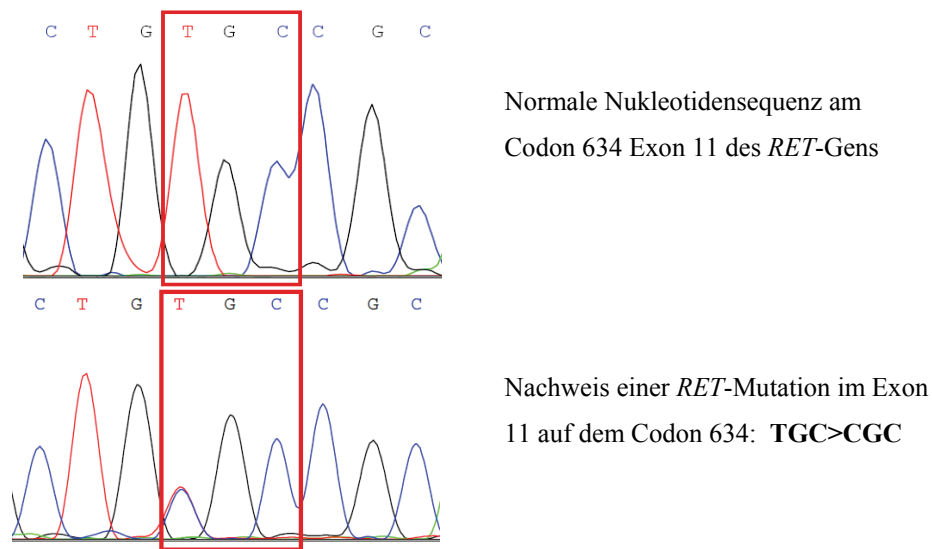


Abbildung 3.25: Sequenzierungsbefund der Patientin mit der Fallnummer 23 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits, jeweils ca. 2 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Stammbaum:

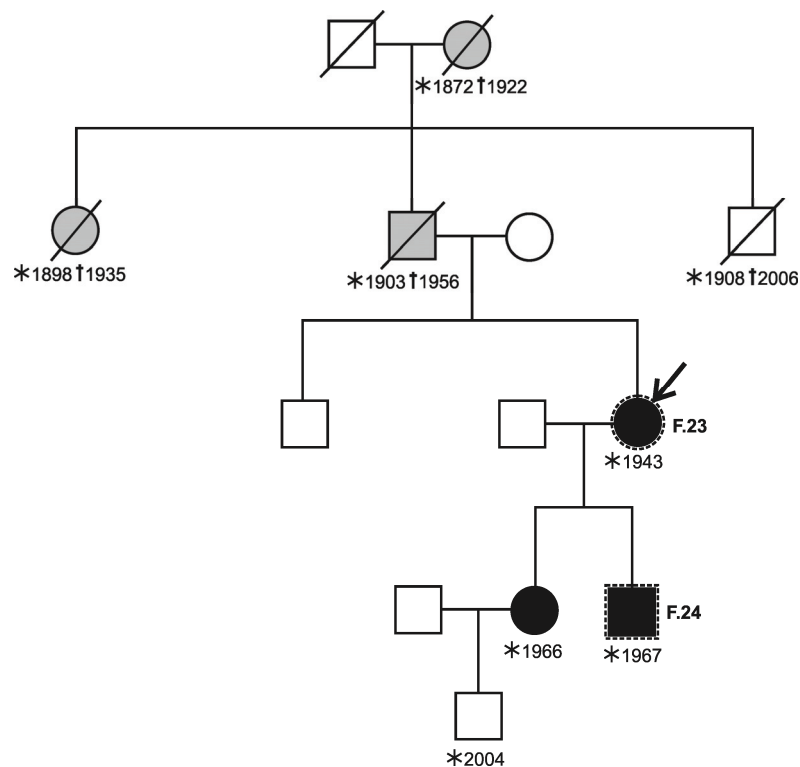


Abbildung 3.26: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *RET* C634R markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen und mit grau die Angehörigen, bei denen die Erkrankung vermutet aber nicht gesichert war. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf den Indexpatienten.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr, †: Todesjahr, Schrägstrich bedeutet verstorben
F.23: Fallnummer 23, F.24: Fallnummer 24 der Marburger Studie

Fallnummer 24:

Initialen: W.D.
Geschlecht: männlich

Geburtsjahr: 1967
Jahr der Operation: 2003

Anamnese:

Der Patient ist Mitglied einer MEN 2A-Familie. Bei der Diagnosestellung waren Mutter (Fallnummer 23) und Schwester des Patienten mit MEN 2A-Syndrom bekannt. Im Rahmen des im Jahr 2003 durchgeführten Familienscreenings zeigte sich der Befund eines Phäochromozytoms der rechten Nebenniere. Klinisch berichtete der Patient über Herzrasen, Kaltschweißigkeit, Kopfschmerzen und Blässe. Eine arterielle Hypertonie war nicht bekannt.

Diagnostik und Befunde:

Abdominelles MRT: Bild eines ca. 2,4 cm großen Phäochromozytoms der rechten Nebenniere. Lokale Lymphknoten oder Infiltrationszeichen liegen nicht vor. Die gegenseitige Nebenniere ist unauffällig.

MIBG-Szintigraphie: In den 4-Std.-Aufnahmen weitgehend physiologische Aktivitätsverteilung, die die sympathoadrenerge Innervation der Organe widerspiegelt. In den 24-Std.-Aufnahmen im Bereich der rechten Nebenniere kräftige fokale Aktivitätsmehrbelegung. Somit dringender Verdacht auf das Vorliegen eines Phäochromozytoms im Bereich der rechten Nebenniere, keine weiteren pathologischen MIBG-affinen Strukturen.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	deutlich erhöht*	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	normal*	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	normal*	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	deutlich erhöht*	Normwert: - 320 µg/d
Normetanephrin im Urin:	deutlich erhöht*	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	normal*	Normwert: 3 - 7 mg/d

* Die genauen Werte waren nicht auffindbar. Die Angaben „normal“ und „deutlich erhöht“ ergaben sich aus den Arztberichten.

Therapie:

2003: Adrenalektomie rechts (laparoskopisch)

- Histologie: Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 2,5 cm groß. Kein Nachweis von Gefäßeinbrüchen.

2003: Drei-Nebenschilddrüsenresektion, totale Thyreoidektomie sowie Resektion der medialen und lateralen Lymphknotenkompartimente beidseits

- Histologie: 1. Adenomatöse Epithelkörperchenhyperplasie links unten und rechts unten, rechts unten mit leichten regressiven Veränderungen. Leicht proliferiertes Epithelkörperchengewebe von links oben und rechts oben.
2. Bilaterales, multifokales C-Zell-Karzinoms mit bis max. 7 mm großen Karzinomherden ohne Organüberschreitung. Vereinzelte Metastasen, pT1 N1b M0.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Phäochromozytoms links oder ein Rezidiv des Phäochromozytoms rechts. Es erfolgte keine weitere Operation des C-Zell-Karzinoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 11:	<p>Dasselbe abnorme Bandenmuster in SSCP/DHPLC wie bei der Mutter (Fallnummer 23).</p> <p>Dies entspricht der Mutation: RET Codon 634 TGC>CGC.</p> <p>Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634R.</p>
------------	----------	--

Kommentar: Da in der Familie bereits eine *RET*-Mutation auf Exon 11 bekannt war, wurde in diesem Fall lediglich Exon 11 des *RET*-Gens untersucht.

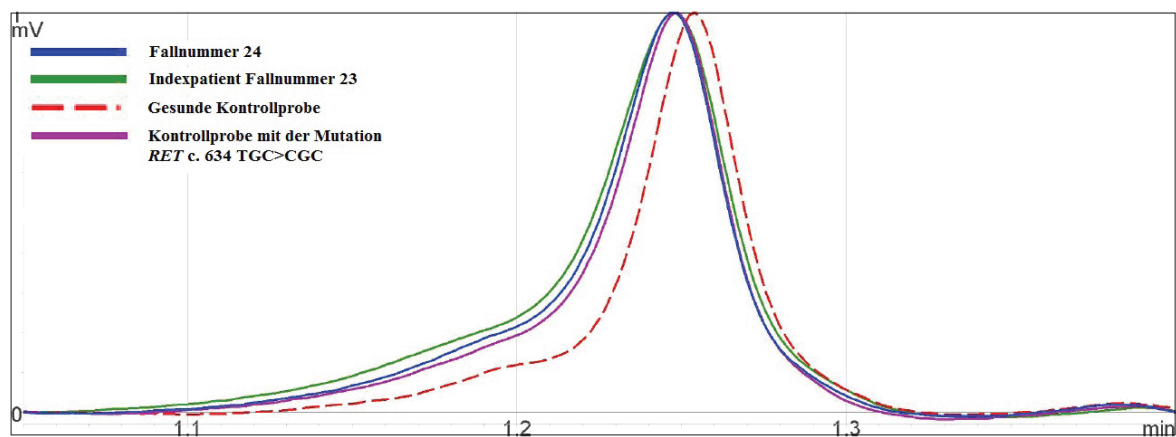


Abbildung 3.27: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 24 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe und zum Chromatogramm der Indexpatientin mit der Fallnummer 23 spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 2,5 cm groß, im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Fallnummer 25:**Initialen:** N.M.**Geburtsjahr:** 1967**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 1997, 2001, 2008, 2009**Anamnese:**

Der Patient stellte sich zur Abklärung einer seit einigen Wochen im Rahmen einer Sehstörung aufgefallenen arteriellen Hypertonie mit Blutdruckspitzen bis 260/160 mmHg und konsekutivem Fundus hypertonicus Grad III ärztlich vor. Sonographisch fiel eine unklare Raumforderung der linken Nebenniere auf.

Familienanamnese:

Am Anfang gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese. Im Verlauf wurden keine weiteren Angehörigen mit MEN 2A-Syndrom diagnostiziert. Anamnestisch schien die Erkrankung jedoch von väterlicher Seite vererbt zu sein.

Diagnostik und Befunde:**Sonographie:**

1997: Im Bereich der linken Nebenniere stellt sich eine 4 x 4 cm große Raumforderung dar.

2001: Nebennierenloge beidseits soweit beurteilbar unauffällig.

Abdominelles CT:

1997: Solide Raumforderung im Bereich der linken Nebenniere.

2001: Z.n. Adrenalektomie linksseitig. Weiterhin ist eine Verdickung des medialen Schenkels der rechten Nebenniere zu erkennen. Diese stellt sich im Verlauf konstant mit 1 x 2 cm Größe dar. An der dorsomedialen Zirkumferenz der rechten Niere findet sich eine knapp 1 cm große Läsion, bei der es sich am ehesten um eine kleine Zyste handelt.

2008: Nachweis eines intensiv KM-aufnehmenden Lymphknotens im hinteren unteren Mediastinum prävertebral rechts, der morphologisch den Kriterien eines Phäochromozytoms entspricht.

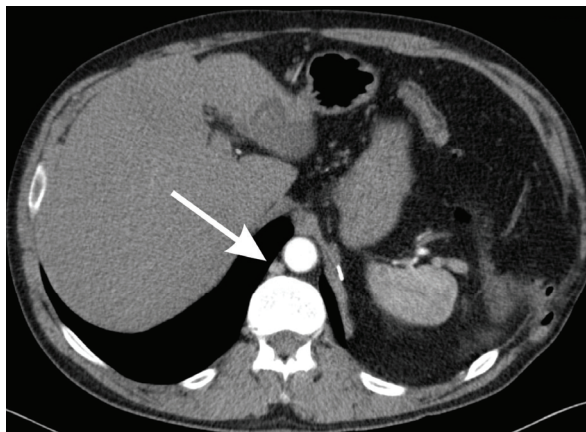


Abbildung 3.28: CT Befund von 2008. Der Pfeil zeigt auf den verdächtigen Lymphknoten.

Abdominelles MRT:

1997: Raumforderung der linken Nebenniere. Kein Anhalt für Infiltration in die Nachbarorgane.

2008: Retrocrurale Raumforderung rechts von 10 mm, die in T2 signalintens zur Darstellung kommt und nach KM-Gabe ein deutliches Enhancement zeigt. Hier ist der Verdacht auf ein Lymphknoten-

Rezidiv des Phäochromozytoms/extraadrenaler Zweittumor bei eindeutiger biochemischer Diagnose gerechtfertigt.

- 2009: Entsprechend dem externen DOPA-PET-CT (Freiburg) finden sich um den linken Nierenstiel multiple knotige Formationen, die im Vergleich zur MR-Voruntersuchung vom 10.3.2009 langsam progredient erscheinen und als lokales Rezidiv eines Phäochromozytoms gewertet werden müssen.

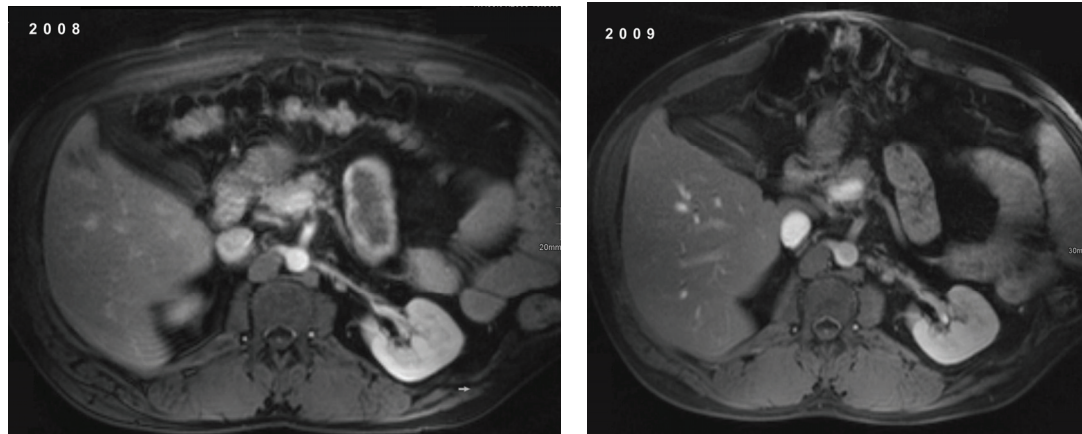


Abbildung 3.29: MRT Befunde. Multiple knotige Formationen um den linken Nierenstiel, die im Jahr 2009 im Vergleich zur MR-Voruntersuchung vom 2008 langsam progredient erschienen und als lokales Rezidiv eines Phäochromozytoms gewertet wurden.

MIBG-Szintigraphie:

- 2001: Bei der im Vergleich zur Voruntersuchung neu aufgetretenen Mehrbelegung in Projektion auf die rechte Nebenniere kann aufgrund der fehlenden Seitenvergleich-Möglichkeit zwischen einem kleinen Phäochromozytom und einer Nebennierenhyperplasie nicht sicher differenziert werden.
- 2008: Szintigraphischer Nachweis eines Jod-123-MIBG-sensitiven Speicherherdes in Projektion auf die linke Nebennierenloge. Dieser Befund wäre vereinbar mit einem Lokalrezidiv.
- 2009: Auffällig sind zwei MIBG-positive Speicherherde in Projektion auf die linke Nierenloge/Nierenhilus, ohne Nachweis weiterer MIBG-positiver Speicherherde.

Endosonographie:

- 2001: In der linken Nebennierenloge kein Nachweis von Nebennierengewebe oder pathologischen Strukturen. Die rechte Nebenniere imponiert sehr kräftig und ist insbesondere in ihrem dorsalen Anteil verdickt (bis 12 cm), ohne dass sich allerdings in diesem Bereich eine umschriebene Raumforderung abgrenzen ließ. Apikal vom medialen Schenkel der rechten Nebenniere grenzt sich eine rundliche 7 x 8 mm messende, echoarme, weitgehend homogene Struktur ab, die in verschiedenen Ebenen kapsulär begrenzt imponiert. Sie scheint deutlich diffus hyperperfundiert. Dieser Befund ist dringend verdächtig, einem kleinen Phäochromozytom zu entsprechen.
- 2008: Beide Nebennierenloggen sind leer. Korrespondierend zum MRT-Befund findet sich knapp cranial des Zwerchfells retroaortal ein echoarmer Knoten, 10,1 x 7,5 mm, rundlich, homogen echoarm, der im Sinne der Fragestellung als verdächtig anzusprechen ist. Etwas weiter cranial stellen sich retroaortal zwei weitere Lymphknoten dar, 8 und 5 mm messend, die im Vergleich zum erstgenannten Knoten deutlich echogener sind.
- 2009: Cranial des Pankreascorpus in Nachbarschaft zur Milzvene stellen sich zwei eher echoreiche, mäßig inhomogene, noduläre Befunde dar, 21 x 7 und 10 x 4 mm messend, die im Sinne der Fragestellung als suspekt zu bewerten sind.

Dopa-PET:

- 2008: Rundliche Mehrspeicherung etwa in Projektion auf die untere BWS paramedian rechts.
- 2009: Verdacht auf ein Tumorrezidiv mit vier F-DOPA-positiven Knoten im Bereich des linken Nierenhilus. Mehrbelegung im Bereich der Schädelkalotte rechts supraorbital und rechtslateral im HWK 4, ohne eindeutiges Korrelat in der CT

Katecholamine-Bestimmung:

2001:	Adrenalin im Urin:	3,5 µg/d +	Normwert: 3 - 15 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	76 µg/d +	Normwert: 15 - 80 µg/d
	Dopamin im Urin:	80 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
2008:	Adrenalin im Urin:	4 µg/d	Normwert: 3 - 28 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	247 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
	Dopamin im Urin:	232 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
	Metanephrin im Urin:	47 µg/d	Normwert: - 320 µg/d
	Normetanephrin im Urin:	1730 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
	VMA im Urin:	7,1 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d
2009:	Adrenalin im Urin:	1 µg/d	Normwert: 3 - 28 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	293 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
	Dopamin im Urin:	198 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
	Metanephrin im Urin:	80 µg/d	Normwert: - 320 µg/d
	Normetanephrin im Urin:	1883 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
	VMA im Urin:	7,2 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d

Clonidin Test:

2001:	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):
Min -30:	20 ng/l	697 ng/l
Min 0:	20 ng/l	661 ng/l
Min 180:	20 ng/l	572 ng/l
<i>Beurteilung:</i> Pathologischer Clonidin-Test bei inadäquater Supprimierbarkeit von Noradrenalin.		
2008:	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):
Min -30:	< 15 ng/l	2487 ng/l
Min 0:	19,2 ng/l	4540 ng/l
Min 180:	12,3 ng/l	2437 ng/l
<i>Beurteilung:</i> Pathologischer Clonidin-Test bei inadäquater Supprimierbarkeit von Noradrenalin.		
2009:	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):
Min -30:	15,7 ng/l	2155 ng/l
Min 0:	< 15 ng/l	1330 ng/l
Min 180:	< 15 ng/l	1305 ng/l
<i>Beurteilung:</i> Pathologischer Clonidin-Test bei inadäquater Supprimierbarkeit von Noradrenalin.		

Therapie:

- 1997: Adrenalektomie links (konventionell-offen)
- Histologie: Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 4 cm groß

- 1998: Prophylaktische Thyreoidektomie und zentrale Neck dissection mit Re-Implantation von Epithelkörperchen in beide M. sternocleidomastoidei, die Nebenschilddrüse links oben in situ belassen
- Histologie: C-Zell-Hyperplasie Grad III
- 2001: Adrenalektomie rechts (laparoskopisch)
- Histologie: diskrete Hyperplasie des rechten Nebennierenmarkes. Ein umschriebenes Phäochromozytom liegt nicht vor.
- 2008: Z.n. laparatomischer Exzision eines Paraganglioms im Bereich des rechten Grenzstrangs mit paraaortaler Lymphadenektomie
- Histologie: Paragangliom, ca. 1 x 0,7 cm groß
- 2009: Rezidiv-Exzision mit totaler linker Nephrektomie und lokaler Exzision Pankreasschwanz
- Histologie: - Im Bereich des Nierenbeckens und Nierenhilus mehrere kleinere Infiltratherde eines malignen Phäochromozytoms / Paraganglioms, fokal mit beginnender Infiltration der Nierenvenenwand. Lymphknoten-Metastasen des perirenenalen Fettgewebes (6/10), teilweise mit perinodalem Tumorwachstum sowie Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa.
- Tumorfrees Pankreasparenchym mit organotypischem Aufbau.

Verlauf:

Nach der linksseitigen Phäochromozytom-Operation im Jahr 1997 wurde der Patient zum Ausschluss eines MEN-Syndroms endokrinologisch vorgestellt. Bei positivem Befund erfolgte eine prophylaktische Thyreoidektomie mit zentraler Neck dissection und Re-Implantation von Epithelkörperchen in beide M. sternocleidomastoidei. Im Verlauf zeigte sich kein Hinweis auf ein C-Zell-Karzinom oder einen Hyperparathyreoidismus.

Im Rahmen der regelmäßigen endokrinologischen Kontrollen wurde im Jahr 2001 aufgrund eines positiven Clonidin-Testes und einer auffälligen bildgebenden Diagnostik (Endosonographie, MIBG-Szintigraphie) der dringende Verdacht auf ein Phäochromozytom rechts geäußert. Nach Rücksprache mit dem Patienten erfolgte eine totale Adrenalektomie rechts. Histologisch zeigte sich lediglich eine diskrete Hyperplasie des Nebennierenmarkes. Ein Jahr später zeigten sich erhöhte Noradrenalin- und Normetanephrinspiegel im 24-Stunden-Sammelurin sowie eine inadäquate Supprimierbarkeit des Noradrenalins nach Gabe von Clonidin, im Sinne eines Rezidivs bzw. Filliae, allerdings ohne morphologisches Korrelat in der bildgebenden Diagnostik, einschließlich in Dopa-PET. Im Jahr 2008 fiel in der bildgebenden Diagnostik (MRT, Dopa-PET, Endosonographie) eine retrocural gelegene Raumforderung rechts von ca. 10 mm auf, passend zu einem Paragangliom, bei weiterhin erhöhter Noradrenalin- und Normetanephrin-Ausscheidung und pathologischem Clonidin-Test. Es erfolgte eine laparatomische Exzision des Paraganglioms im Bereich des rechten Grenzstrangs mit paraaortaler Lymphadenektomie. Im Jahr 2009 zeigte sich bei unveränderter Laborkonstellation ein Rezidiv im Bereich des linken Nierenhilus (MRT, Dopa-

PET, Endosonographie), das operiert wurde, mit einschließlich totaler linker Nephrektomie. Postoperativ zeigte sich laborchemisch und bildgebend kein Hinweis auf ein Rezidiv.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 10,11:	Normalbefunde
	Exon 13:	Abnormes Bandenmuster in SSCP / DHPLC
		Die Sequenzierung ergab die Mutation: RET Codon 790 TTG>TTT .
		Konsequenz auf Aminosäureebene: p. L790F .

Kommentar: Zum Zeitpunkt der genetischen Untersuchung war klinisch das MEN 2A-Syndrom bereits bekannt.

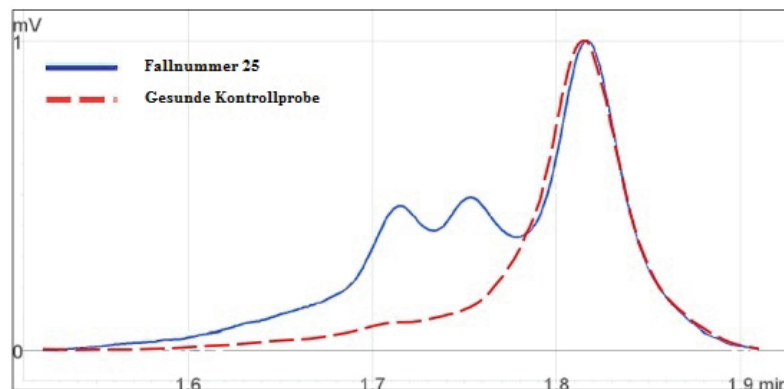
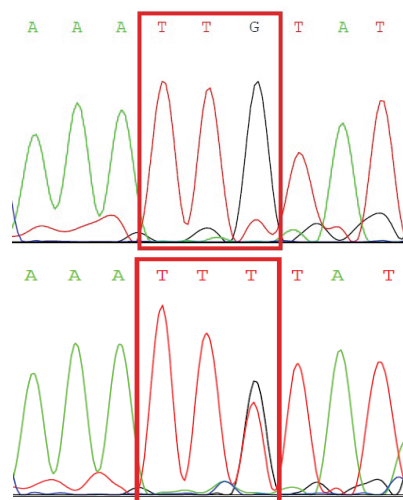


Abbildung 3.30: DHPLC-Befund. Das Chromatogramm des Patienten mit der Fallnummer 25 zeigt eine relevante Abweichung vom Normalbefund, hinweisend auf das Vorliegen einer *RET*-Mutation auf dem Exon 13. Die daraufhin durchgeführte Sequenzierung bestätigte die *RET*-Mutation c. 790 TTG>TTT.



Normale Nukleotidensequenz am
Codon 790 Exon 13 des *RET*-Gens

Nachweis einer *RET*-Mutation im Exon
13 auf dem Codon 790: **TTG>TTT**

Abbildung 3.31: Sequenzierungsbefund des Patienten mit der Fallnummer 25 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 4 cm groß (1997) mit Lokalrezidiv 2009, Nebennierenmarkhyperplasie rechts (2001) sowie Paragangliom im Bereich des rechten Grenzstrangs, ca. 1 cm groß (2008), im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

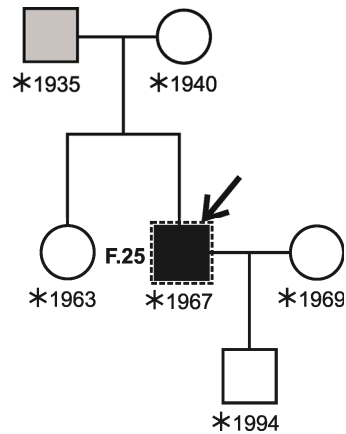
Stammbaum:

Abbildung 3.32: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *RET* L790F markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen und mit grau die Angehörigen, bei denen die Erkrankung vermutet aber nicht gesichert war. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf den Indexpatienten.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr

F.25: Fallnummer 25 der Marburger Studie

Fallnummer 26:**Initialen:** H.R.**Geburtsjahr:** 1962**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 1988**Anamnese:**

Beim Patienten war seit ca. einem Jahr eine arterielle Hypertonie bekannt. Zusätzlich kam es rezidivierend zu Schwindel, Blässe, Kopfschmerzen, Erbrechen und Tachykardien. In der zur Abklärung dieser Beschwerden durchgeführten Sonographie des Abdomens zeigte sich eine unklare Raumforderung am linken oberen Nierenpol, daraufhin erfolgte eine weitere endokrinologische Abklärung.

Familienanamnese:

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung war bekannt, dass die Mutter des Patienten nach einer Schilddrüsen-Operation bei kardialen Komplikationen im Alter von 37 Jahren verstorben war. Erst im Nachhinein wurde klar, dass die Mutter auch an einem MEN 2A-Syndrom gelitten hatte.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Am linken oberen Nierenpol ca. 5 cm durchmessende Raumforderung.

Abdominelles CT: Tumoröse Raumforderung im Bereich beider Nebennieren, links von maximal 5 cm Durchmesser, rechts von 2,5 x 1,5 cm Durchmesser. In der Nebennierenangiographie kommt es zu einem deutlichen KM-Enhancement im Bereich beider Nebennieren.

MIBG-Szintigraphie: Umschriebene MIBG-Speicherung im Bereich des kranialen Nierenpols links. Szintigraphisch unauffällige Darstellung der rechten Nebennierenregion sowie entlang des Grenzstranges. Kein Hinweis für weitere Herde.

Katecholamine-Bestimmung:

VMA, Metanephrin und Normetanephrin im 24-Stunden-Sammelurin auf das 3- bis 6,5-fache des oberen Normwertes erhöht*

* Die genauen Werte waren nicht auffindbar. Die Angaben ergaben sich aus den Arztberichten.

Adrenalin im Plasma: 4296 ng/l + Normwert: - 140 ng/l

Noradrenalin im Plasma: 7500 ng/l + Normwert: - 470 ng/l

Therapie:

1988: Totale beidseitige Adrenalektomie (konventionell-offen)

- Histologie: Bilaterales Phäochromozytom, rechts ca. 2,5 cm, links ca. 5 cm

1988: Totale Thyreoidektomie und Parathyreoidektomie mit Autotransplantation eines Epithelkörperchens in den linken M. sternocleidomastoideus

- Histologie: 1. medulläres Schilddrüsen-Karzinom mit Lymphknoten-Metastasen
2. adenomatöse Hyperplasie eines Epithelkörperchens im rechten Thymus

1988: Ausgedehnte Halsexploration mit prätrachealer Lymphknotendisektion

- Histologie: vernarbtes Weichteil- und Muskelgewebe. Lymphknoten oder atypisches Gewebe nicht nachweisbar.

1995: Exploration des Mediastinums und Neck Dissektion linke Halsseite

1995: Neckdissektion rechter Halsseite mit Weichteilinfiltration des C-Zell-Karzinoms

Verlauf:

Im Jahr 2007 wurde endosonographisch der Verdacht auf ein interaortocavalportales Paragangliom geäußert, bei gleichzeitig leicht erhöhter Ausscheidung von Normetanephrin, VMA und später auch Adrenalin. Bei unauffälligem Clonidin-Test sowie negativem Befund der MIBG-Szintigraphie und DOPA-PET konnte jedoch ein Phäochromozytom bzw. Paragangliom ausgeschlossen werden. Bei totaler beidseitiger Adrenalektomie kam es postoperativ zu einer therapiebedürftigen primären Nebenniereninsuffizienz mit der Notwendigkeit einer dauerhaften Substitutionstherapie mit Hydrocortison 30 mg pro Tag und Astonin H.

Kurze Zeit nach der beidseitigen Adrenalektomie wurde auch ein C-Zell-Karzinom mit Lymphknoten-Metastasen sowie ein primärer Hyperparathyreoidismus diagnostiziert, daraufhin erfolgte eine totale Thyreoidektomie und Parathyreoidektomie. Postoperativ zeigten sich weiterhin erhöhte Calcitonin- und CEA-Werte sowie ein auffälliger Pentagastrintest, hinweisend auf eine Mehrproduktion durch Restzellen des C-Zell-Karzinoms. Noch im Jahr 1988 erfolgte eine ausgedehnte Halsexploration mit prätrachealer Lymphknotendissektion, intraoperativ bzw. histologisch konnten allerdings keine Metastasen nachgewiesen werden. Im Verlauf erfolgten multiple weitere Interventionen, die Hypercalcitoninämie blieb allerdings konstant erhöht bei fehlendem bildgebendem morphologischem Korrelat.

Molekulargenetische Untersuchung:

RET	Exon 10, 13-16:	Normalbefunde
	Exon 11:	Abnormes Chromatogramm in DHPLC/ SSCP
		Die Sequenzierung ergab die Mutation: RET Codon 634 TGC>CGC .
		Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C634R .

Kommentar: Zum Zeitpunkt der genetischen Untersuchung war klinisch das MEN 2A-Syndrom bereits bekannt.

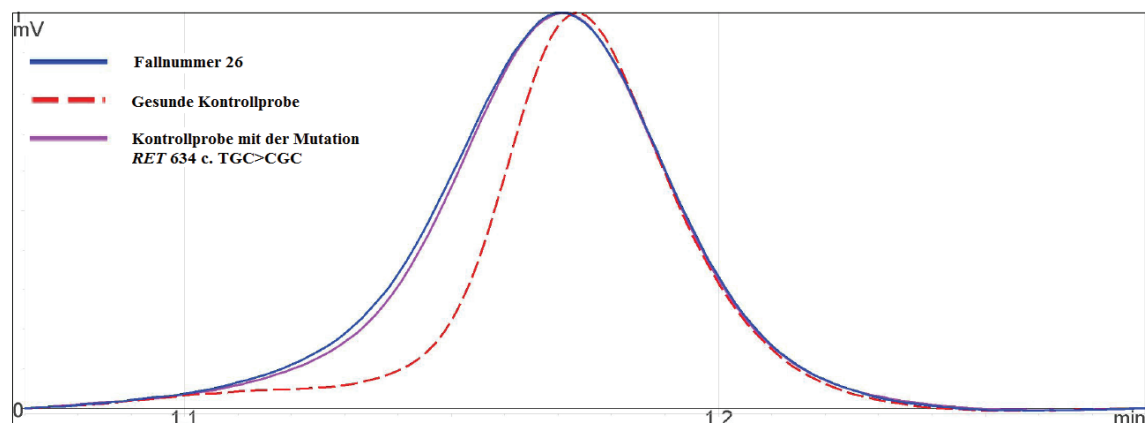


Abbildung 3.33: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 26 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *RET*-Mutation c. 634 TGC>CGC.

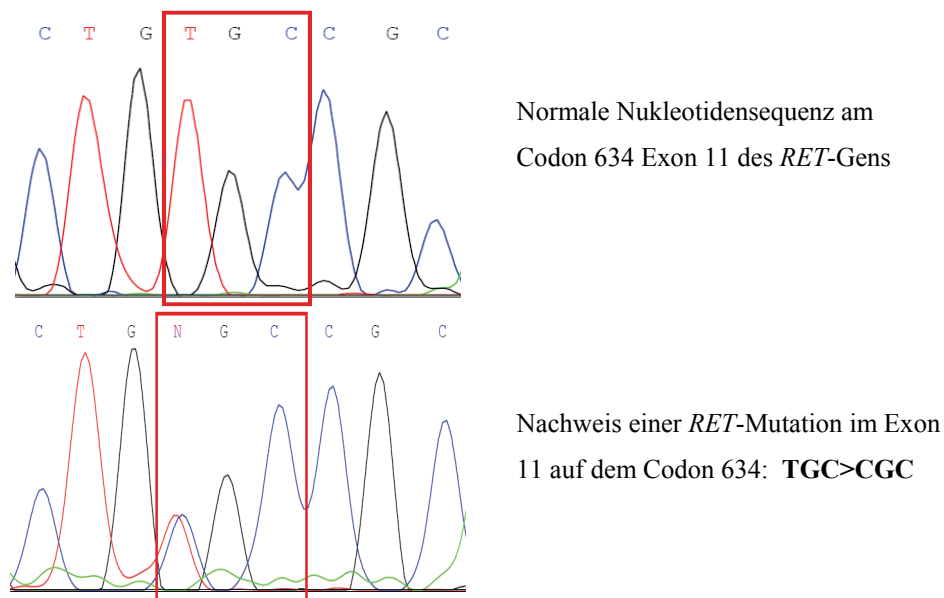


Abbildung 3.34: Sequenzierungsbefund des Patienten mit der Fallnummer 26 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Phäochromozytom beidseits (links ca. 5 cm, rechts ca. 2,5 cm groß) im Rahmen einer MEN 2A-Erkrankung

Stammbaum:

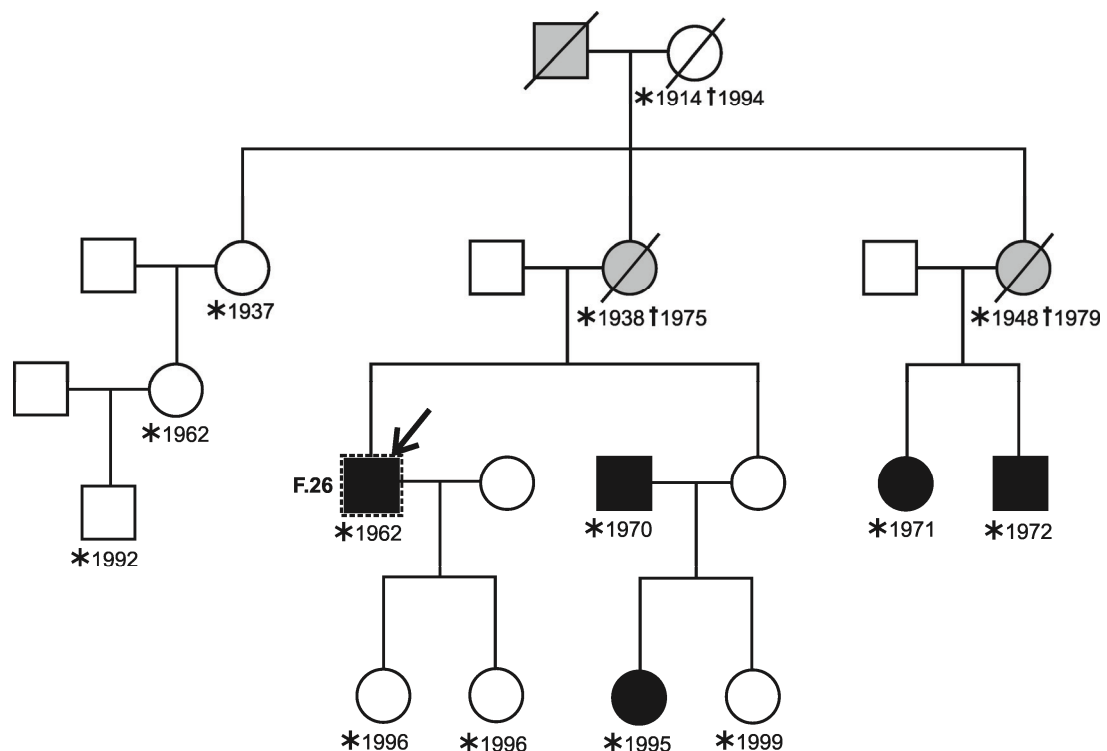


Abbildung 3.35: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *RET* C634R markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen und mit grau die Angehörigen, bei denen die Erkrankung vermutet aber nicht gesichert war. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf den Indexpatienten.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr, †: Todesjahr, Schrägstrich bedeutet verstorben
F.26: Fallnummer 26 der Marburger Studie

Fallnummer 27:**Initialen:** M.P.A.**Geburtsjahr:** 1957**Geschlecht:** männlich**Jahr der Operation:** 2005, 2007**Anamnese:**

Beim Patient wurde im Jahr 1990 bei einem Hämangioblastom des Kleinhirns die Diagnose eines VHL-Syndroms gestellt.

Familienanamnese:

Beim Patienten waren keine weiteren Angehörigen mit VHL-Syndrom bekannt.

Diagnostik und Befunde:**Abdominelles CT:**

2005: Am rechten Nierenunterpol überwiegend solides, teils zystisches und/oder kolliquieendes Neoplasma (Nierenzellkarzinom) von bis zu 10 cm schräg transversalem Durchmesser; ein breiter Tumorzapfen reicht in die V. cava inferior hinein.

Abdominelles MRT:

2005: Vorbekannte polyzystische Nierendegeneration beidseits und vorbekannter überwiegend solider Nierentumor rechts. Ein Tumorzapfen reicht gerade in die V. cava inferior hinein. Keine Ausdehnung innerhalb der V. cava. Auch im weiteren Verlauf nach kranial bis in die Einmündung zum rechten Herzen keine Cavathrombose

Weiter kranial paraaortal rechts, möglicherweise in der Nebennierenloge, zeigt sich eine weitere 5,4 x 2,5 cm große Raumforderung, die die V. cava inferior hochgradig komprimiert.

2007: Zwei suspekt Nierenläsionen links, davon eine mit Kontrastmittelaufnahme. In T2w hyperintense Nebennierenläsion links ebenfalls mit Kontrastmittelaufnahme.

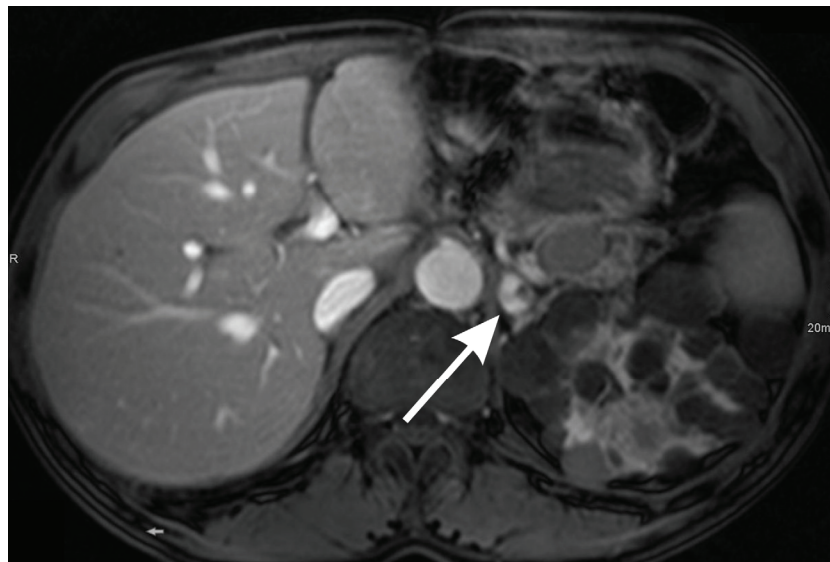


Abbildung 3.36: MRT Befund von 2007. Der Pfeil zeigt auf die Nebennierenläsion links.

MIBG-Szintigraphie:

2007: Pathologischer Jod-123-MIBG-Uptake im Bereich der linken Nebenniere, vereinbar mit Phäochromozytom DD Paragangliom.

Katecholamine-Bestimmung:

2007:	Adrenalin im Urin:	4,32 µg/d	Normwert: 3 - 28 µg/d
	Noradrenalin im Urin:	39,92 µg/d	Normwert: 15 - 100 µg/d
	Dopamin im Urin:	147,89 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
	Metanephrin im Urin:	129,42 µg/d	Normwert: - 320 µg/d
	Normetanephrin im Urin:	522,46 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
	VMA im Urin:	4,73 mg/d	Normwert: 3 - 7 mg/d

Therapie:

- 1990: Entfernung eines Hämangioblastoms des Kleinhirns mit Implantation eines ventrikulo-jugulären Shunt
- 2005: Transperitoneale rechtsseitige Tumornephrektomie mit partieller Adrenalektomie, retroperitonealer Lymphadenektomie und Resektion eines interaortocavalen Paraganglioms
- Histologie: - 12 cm großes, mäßig bis schlecht differenziertes, klarzelliges Nierenzellkarzinom rechts mit Tumoreinbruch in Nierenhilusvenenäste und die V. renalis. UICC: Klarzelliges Nierenzellkarzinom G2-3, pT3b pNX pMX; L0 V1 R0
 - Partiiell regressiv verändertes extraadrenales Paragangliom, ca. 6 cm groß
- 2007: Adrenalektomie links (konventionell-offen) und Entfernung eines zusätzlichen extraadrenalen Paraganglioms im Bereich des Nierenhilus
- Histologie: - Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 2,2 cm groß, mit regressiven Veränderungen. Mikronoduläre Nebennierenrindenhyperplasie
 - Extraadrenales Paragangliom, ca. 1,5 cm groß

Verlauf:

Im Jahr 1990 wurde beim Patienten ein Hämangioblastom des Kleinhirns operativ entfernt, postoperativ kam es zu einer persistierenden cerebellären Ataxie.

Im Jahr 2005 wurde ein klarzelliges Nierenzellkarzinom rechts diagnostiziert. Im Rahmen der damals durchgeführten Diagnostik wurde im interaortocavalen Bereich eine Metastase des Nierenzellkarzinoms vermutet, die operativ mit entfernt wurde. Die histologische Untersuchung erbrachte allerdings den Befund eines extraadrenalen interaortocavalen Paraganglioms.

Im Jahr 2007 wurde im Rahmen der Verlaufskontrollen ein Phäochromozytom der linken Nebenniere festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt wies der Patient rezidivierende hypertensive Entgleisungen mit Blutdruckwerten bis 200 mmHg systolisch auf. Gleichzeitig wurde auch ein Nierenzellkarzinom der linken Niere mit pulmonalen Metastasen diagnostiziert. Bei insgesamt palliativer Situation aufgrund der pulmonalen Metastasen entschied sich der Patient gegen die Durchführung einer Nephrektomie und die daraus resultierende Dialysepflichtigkeit und für eine systemische Therapie mit einem Tyrosinkinaseinhibitor (Sunitinib). Es erfolgte lediglich eine Adrenalektomie links mit Entfernung eines zusätzlichen extraadrenalen Paraganglioms im Bereich

des Nierenhilus. Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms oder der extraadrenalen Paragangliome.

Bei Zustand nach partieller Adrenalectomie rechts 2005 und totaler Adrenalectomie links 2007 kam es beim Patienten zu einer persistierenden primären Nebenniereninsuffizienz mit der Notwendigkeit einer Substitutionstherapie mit Hydrokortison.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1:	Abnormes Chromatogramm in der DHPLC. Die Sequenzierung ergab die Mutation: VHL Codon 74 GTC>GGC (Nukleotid 434 T>G). Konsequenz auf Aminosäureebene: p. V74G.
	Exon 2, 3:	Normalbefunde

Kommentar: Zum Zeitpunkt der genetischen Untersuchung war klinisch das VHL-Syndrom bereits bekannt.

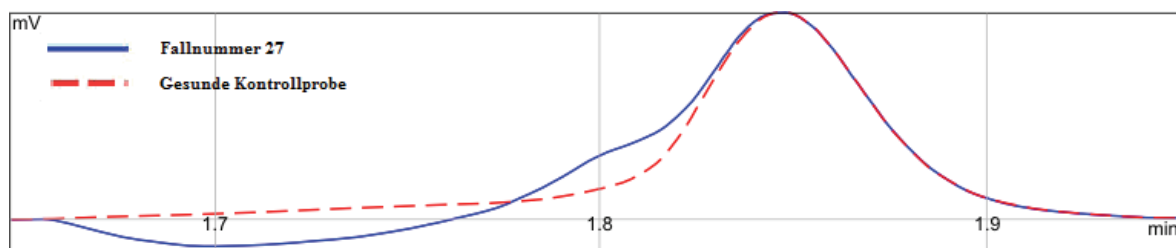


Abbildung 3.37: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 27 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *VHL*-Mutation nt. 434 T>G.

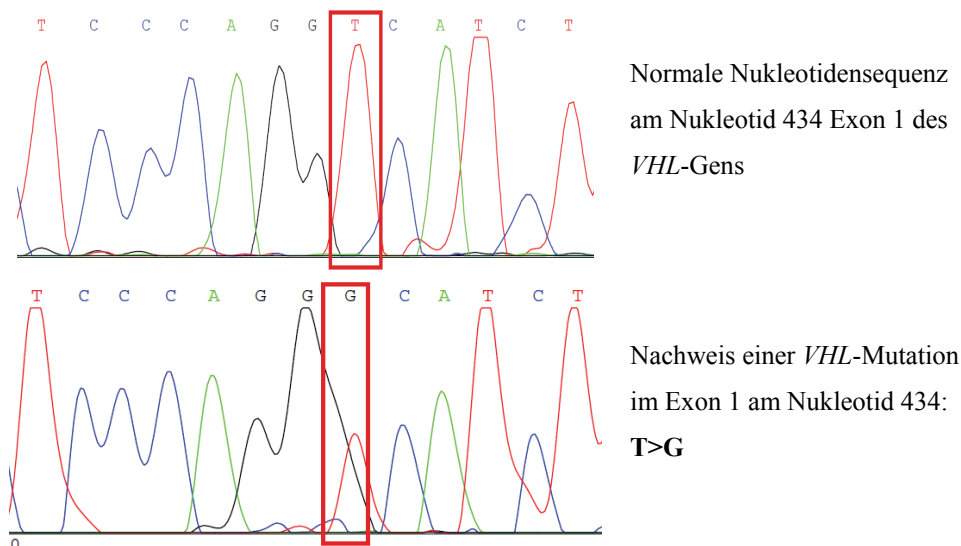


Abbildung 3.38: Sequenzierungsbefund des Patienten mit der Fallnummer 27 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Extraadrenales (interaortocavales) Paragangliom, ca. 6 cm groß (2005) sowie Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 2,2 cm groß (2007) und extraadrenales Paragangliom im Bereich des linken Nierenhilus, ca. 1,5 cm groß (2007), im Rahmen einer VHL-Erkrankung.

Fallnummer 28:

Initialen: N.K.
Geschlecht: weiblich

Geburtsjahr: 1959
Jahr der Operation: 1993

Anamnese:

Anlass zur endokrinologischen Diagnostik war primär das Bild einer Hyperandrogenämie mit Hirsutismus, die später als Ausdruck eines polyzystischen Ovarialsyndroms interpretiert wurde. Die Patientin wies keine Phäochromozytom-typische Symptomatik auf.

Familienanamnese:

Am Anfang gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese. Nach dem Mutationsnachweis wurde den Angehörigen eine molekulargenetische Untersuchung angeboten. Sowohl der Vater der Indexpatientin als auch ihre Halbschwester und ihr Halbbruder lehnten jedoch eine molekulargenetische Analyse explizit ab. Beim Sohn der Indexpatientin wurde die gleiche Mutation nachgewiesen.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Ca. 3 x 5 cm große echoarme Raumforderung im Bereich der rechten Nebenniere. Linke Nebenniere war unauffällig.

Abdominelles CT: Nachweis einer ca. 4 x 3 cm großen, hypodensen Raumforderung in der rechten Nebenniere, vereinbar mit einem Phäochromozytom. Regelrechte Darstellung der linken Nebenniere. Keine paraaortalen Lymphome, keine weiteren suspekten Herde.

MIBG-Szintigraphie: Befund im Sinne eines Phäochromozytoms im Bereich des rechten oberen Nierenpols, Verdacht auf zentrale Nekrose bei zentraler Minderbelegung.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	12.400 µg/d +	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	944.000 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	normal*	Normwert: 67 - 500 µg/d

* Die genauen Werte waren nicht auffindbar. Die Angabe „normal“ ergab sich aus den Arztberichten.

Clonidin Test:

	Adrenalin (EDTA):	Noradrenalin (EDTA):
Min -30:	18 ng/l	1261 ng/l
Min 0:	6 ng/l	911 ng/l
Min 180:	6 ng/l	981 ng/l

Beurteilung: Pathologischer Clonidin-Test im Sinne eines Noradrenalin-produzierenden Tumors.

Therapie:

1993: Adrenalektomie rechts (konventionell-offen)

- Histologie: 4,0 cm großes, immunhistochemisch gesichertes Phäochromozytom (74 g) der rechten Nebenniere mit Verdrängung des übrigen Parenchyms einschließlich der Rinde. Der Tumor ist vollständig erfasst. Umgebendes Fettgewebe frei.

Verlauf:

Im weiteren Verlauf gab es keinen Hinweis auf ein Rezidiv des Phäochromozytoms.

Im Jahr 1998 wurde bei der Patientin ein primärer Hyperparathyreoidismus diagnostiziert. Wegen nur sehr gering ausgeprägter Hypercalcämie und phasenweise auch Normocalcämie wurde von einer operativen Therapie zunächst abgesehen, zumal die Patientin beschwerdefrei war.

Bei der Befundkonstellation mit Phäochromozytom und primärem Hyperparathyreoidismus wurde initial ein MEN 2A-Syndrom vermutet. Eine in den 90er Jahren durchgeführte genetische Untersuchung erbrachte allerdings keine Mutation des *RET*-Gens. Die aktuelle genetische Analyse erbrachte im Jahr 2007 den Befund eines VHL-Syndroms. Die daraufhin durchgeführten MRT Untersuchungen von Kopf, Rückenmark und Abdomen sowie die augenärztliche Kontrolle erbrachte keine weiteren Organmanifestation des VHL-Syndroms.

Im MRT des Abdomens zeigte sich jedoch eine unklare retroperitoneale und retrocrurale Lymphadenopathie, die im kurzfristigen Verlauf größtenprogreredient zur Darstellung kam. Die weitere Abklärung dieses Befundes erbrachte die Diagnose eines niedrig malignen Non-Hodgkin-Lymphoms.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1:	Abnormes Bandenmuster in SSCP / DHPLC. Die Sequenzierung ergab die Mutation: VHL Codon 107 CGC>AGC (Nukleotid 532 C>A) . Konsequenz auf Aminosäureebene: p. R107S .
	Exon 2, 3:	Normalbefunde
SDHB	Exon 1-8:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10,11,13:	Normalbefunde

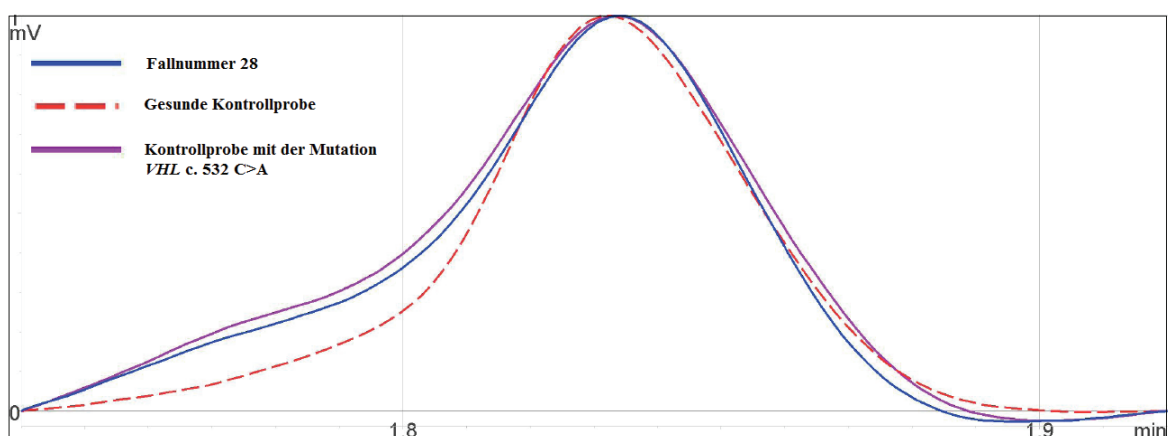


Abbildung 3.39: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 28 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *VHL*-Mutation nt. 532 C>A.

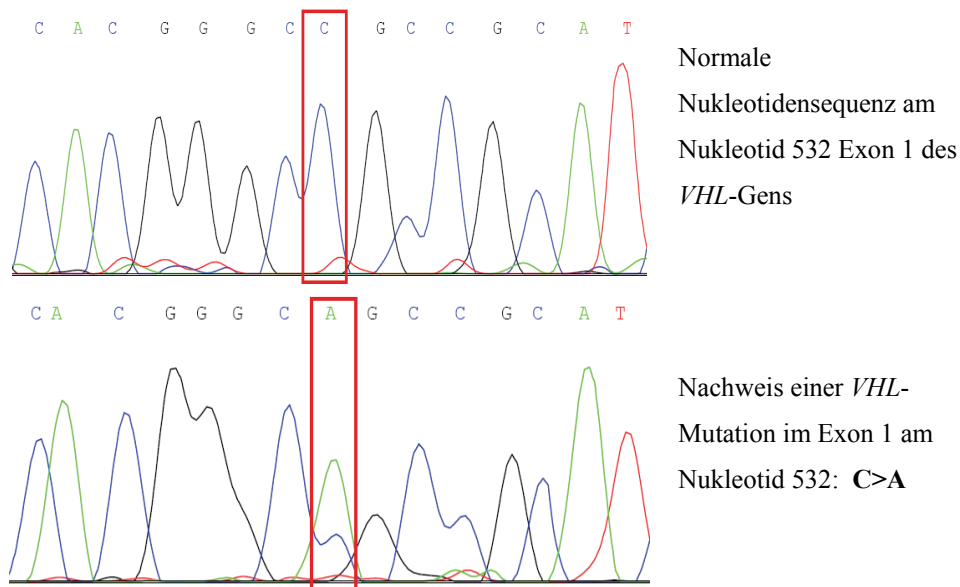


Abbildung 3.40: Sequenzierungsbefund der Patientin mit der Fallnummer 28 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 4 cm groß, im Rahmen einer VHL-Erkrankung, ohne weitere klassische VHL-Manifestationen. Primärer Hyperparathyreoidismus.

Stammbaum:

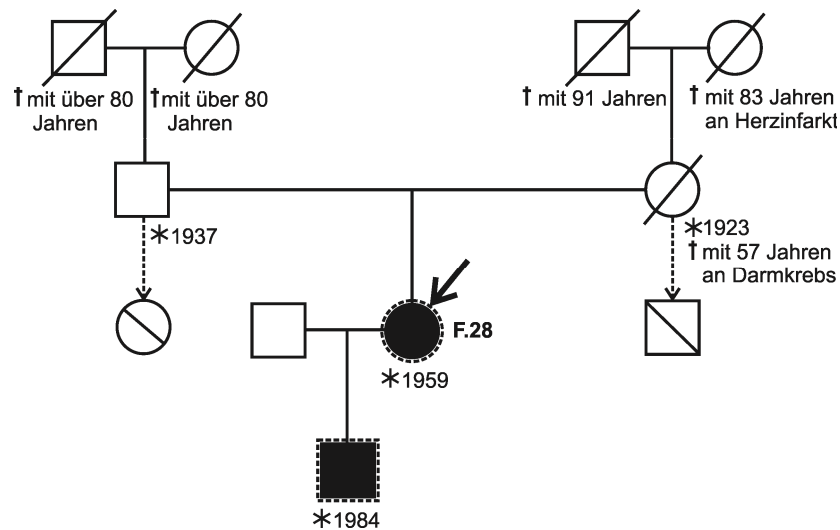


Abbildung 3.41: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *VHL* R107S markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen bzw. diejenigen, die genetisch nicht untersucht wurden. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf die Indexpatientin. Sowohl der Vater als auch die Halbgeschwister der Indexpatientin haben eine genetische Untersuchung auf die *VHL*-Mutation explizit abgelehnt.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr, †: Todesjahr, Schrägstrich bedeutet verstorben

○: Halbschwester, □: Halbbruder

F.28: Fallnummer 28 der Marburger Studie

Fallnummer 29:

Initialen: H.L.B.
Geschlecht: weiblich

Geburtsjahr: 1952
Jahr der Operation: 2005

Anamnese:

Bei der Pat. bestand seit 1989 eine arterielle Hypertonie mit rezidivierenden Blutdruckwerten über 200 mmHg mit seit 2 Jahren progredienter Leistungsminderung beim Sport, gelegentlichen Unruhezuständen und Sehstörungen. Im Rahmen eines Hausarztwechsels wurde durch eine Abdomensonographie eine große Raumforderung im Leberhilus diagnostiziert.

Familienanamnese:

Kein Phäochromozytom oder Paragangliom in der Familienanamnese.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Im Leberhilusbereich peripankreatisch stellen sich multiple Tumorformationen bis zu einem Durchmesser von 5 cm dar. Auch weiter caudal zeigt sich noch eine Formation in einem Durchmesser von 3 cm. Im Bereich der rechten Nebenniere polyzyklisch begrenzte Tumorformationen mit einem kumulativen Durchmesser von 7 x 2,5 cm.

Abdominelles CT: Im Bereich des Leberhilus zeigte sich eine große stark vaskularisierte Raumforderung mit einer Referenzausdehnung auf Höhe des Abganges des Truncus coeliacus mit 9,8 x 4,4 cm. Nach kranial erstreckt sich die Tumorformation bis in den Bereich der Leberkuppe bzw. bis unter das Zwerchfell, nach kaudal bis auf die Höhe des rechtsseitigen Nierengefäßstieles. Eine weitere ca. 2,6 cm große Tumorformation zeigte sich auf Höhe der Bifurkation und der rechten A. iliaca anliegend. In der linken Nebennierenregion zeigt sich ein weiterer ca. 1,9 x 1,4 cm großer Tumor. Fragliche Tumorinfiltration im Bereich der V. cava. Fragliche Knochenmetastasierung im BWK 12.

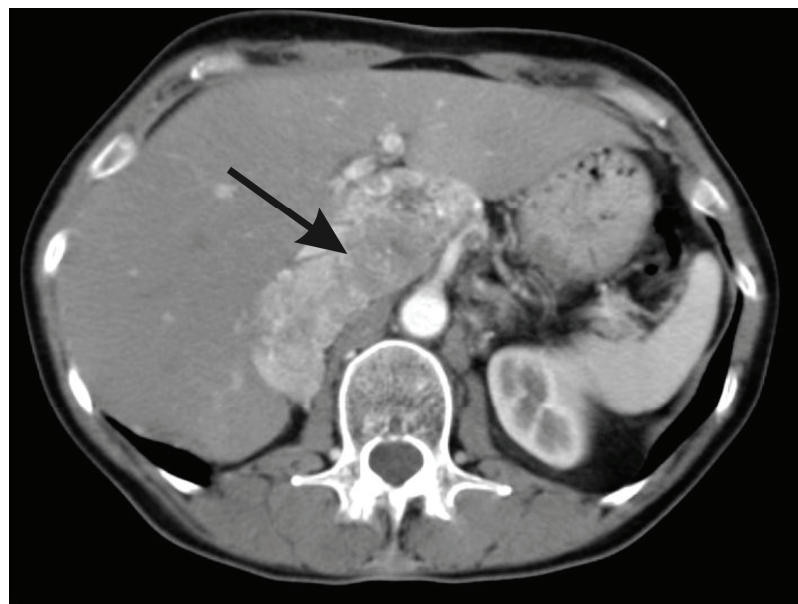


Abbildung 3.42: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das Paragangliom.

MIBG-Szintigraphie: Deutlich MIBG-positives metastasiertes Phäochromozytom rechts mit bereits planar multiplen pathologischen Mehrbelegungen: im mittleren BWS-Bereich links paravertebral (z. B.

Lunge, DD Mediastinum), links supraclaviculär, im Bereich der kaudalen BWS, subhepatisch, in Projektion auf die rechte Nebenniere und im Bereich der rechten Beckenschaufel (DD umliegendes Weichteilgewebe). Die Mehrbelegung subhepatisch ist deutlich ausgeprägt und dürfte einem Konglomerat aus multiplen Mehrbelegungen entsprechen.

Katecholamine-Bestimmung:

Adrenalin im Urin:	8,38 µg/d	Normwert: 3 - 28 µg/d
Noradrenalin im Urin:	2.459,22 µg/d +	Normwert: 15 - 100 µg/d
Dopamin im Urin:	268,34 µg/d	Normwert: 67 - 500 µg/d
Metanephrin im Urin:	69,30 µg/d	Normwert: - 300 µg/d
Normetanephrin im Urin:	18.923,46 µg/d +	Normwert: - 480 µg/d
VMA im Urin:	97,81 mg/d +	Normwert: 3 - 7 mg/d
Weitere pathologische Laborwerte: Chromogranin A: 451,0 U/l		Normwert: 0 - 50 U/l

Therapie:

- 2005: Palliative Tumorresektion/Debulking eines retroperitonealen Paraganglioms mit retrocavaler, retrorenaler, interaortocavaler und retrohepatischer Ausbreitung, mit Adrenalektomie rechts u. partieller Adrenalektomie links (konventionell-offen)
- Histologie: - ca. 10 x 5 x 3 cm großes Tumorkonglomerat eines metastasierten Paraganglioms DD Phäochromozytoms der rechten Nebenniere
 - ca. 2 x 1,5 x 1 cm großes Phäochromozytom der linken Nebenniere
- 2005: Jod-131-MIBG-Therapie mit 8181 MBq
- 2007: Erneute Jod-131-MIBG-Therapie mit 8440 MBq
- 2009: Erneute Jod-131-MIBG-Therapie mit 9857 MBq
- 2009: Analgetische Bestrahlung BWK 8 - Os sacrum, GHD 40 Gy, ED 2 Gy
- 2010: Resektion eines Paraganglioms im Bereich der linken Carotisbifurkation (ED 11/2006)
- Histologie: Glomustumor der Carotisgabel, ca. 2 cm groß

Verlauf:

Im Verlauf kam es zur Entwicklung weiterer Metastasen DD Paragangliome, vor allem diffus in der Wirbelsäule, in der rechten Beckenkammschaufel, sowie pleural im Bereich des Grenzstranges paravertebral links in Höhe BWK 9 und 10. Im Jahr 2006 wurde eine Raumforderung im Bereich der linken Carotisbifurkation nachgewiesen, verdächtig auf eine Metastase oder Glomustumor, die 2010 operiert wurde. Postoperativ zeigten sich weiterhin erhöhte Katecholamine bei bestehenden Metastasen. Der arterielle Hypertonus konnte durch eine Mono-Therapie mit Dibenzyran gut eingestellt werden. Eine primäre Nebenniereninsuffizienz blieb über den ganzen Verlauf konstant, es erfolgte eine entsprechende Dauersubstitutionstherapie.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10, 11, 13-16:	Normalbefunde

SDHB	Exon 1-6, 8:	Normalbefunde
SDHB	Exon 7:	Abnormes Bandenmuster in SSCP / DHPLC. Die Sequenzierung ergab die Mutation: SDHB Codon 217 CGC>TGC (Nukleotid 783 C>T) . Konsequenz auf Aminosäureebene: p. R217C .

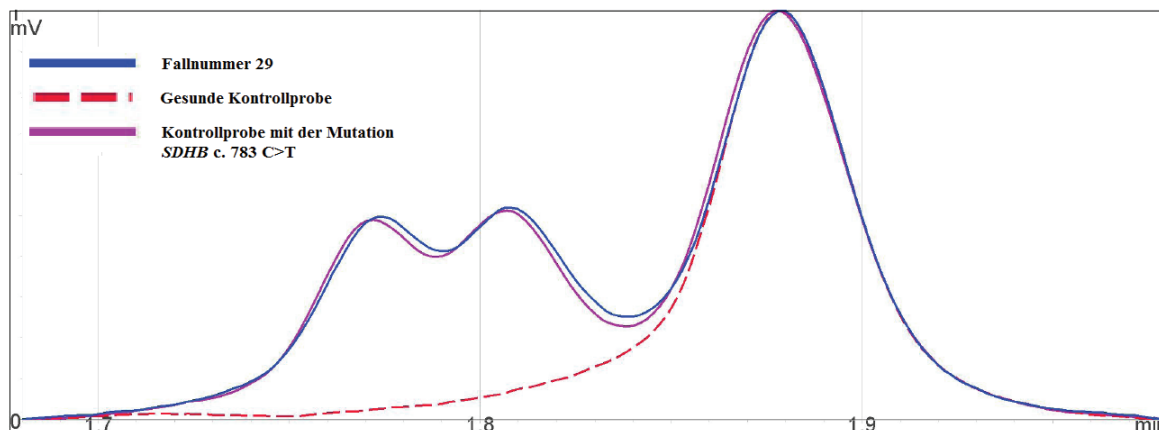


Abbildung 3.43: DHPLC-Befund. Anhand des identischen Chromatogramms des Patienten mit der Fallnummer 29 zum Chromatogramm der pathologischen Kontrollprobe spricht der DHPLC-Befund für den Nachweis einer *SDHB*-Mutation nt. 783 C>T.

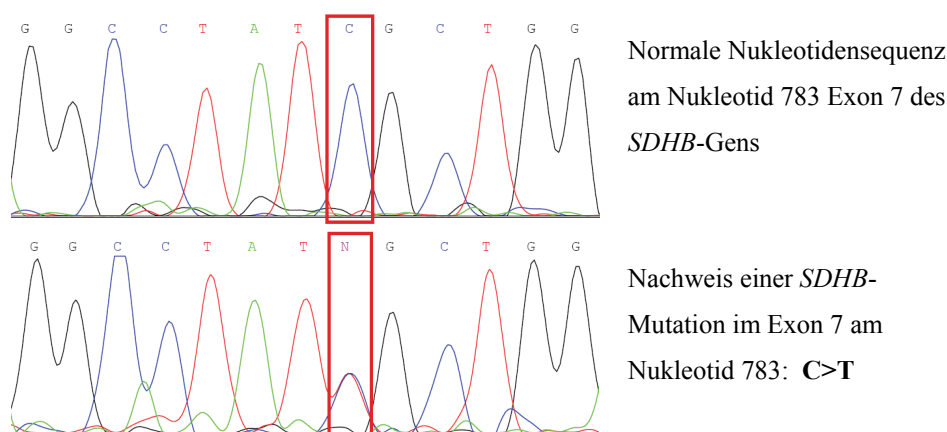


Abbildung 3.44: Sequenzierungsbefund der Patientin mit der Fallnummer 29 im Vergleich zu einer normalen Probe.

Diagnose:

Metastasiertes malignes Paragangliom DD Phäochromozytom der linken Nebenniere, ca. 10 cm groß, und Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ca. 2 cm groß (ED 2005), und Glomustumor im Bereich der linken Carotisbifurkation, ca. 2 cm groß (2010), im Rahmen eines PGL-4-Syndroms

Stammbaum:

Die Patientin ist das einzige Mitglied der Familie mit einer nachgewiesenen Mutation, wobei der Kontakt mit ihrem Vater und der väterlichen Seite der Familie vor langer Zeit abgebrochen wurde.

Fallnummer 30:**Initialen:** F.N.**Geburtsjahr:** 1989**Geschlecht:** weiblich**Jahr der Operation:** 2009**Anamnese:**

Im Rahmen der Abklärung von rezidivierenden Refluxbeschwerden, Sodbrennen und unspezifischen paraumbilicalen Schmerzen zeigte sich sonographisch eine große solide Raumforderung im linken Oberbauch. Bei initialer Verdachtsdiagnose eines Sarkoms erfolgte eine operative Resektion des Tumors. Histologisch zeigte sich jedoch der Befund eines Paraganglioms. Bei der Pat. war keine arterielle Hypertonie bekannt, auch intraoperativ kam es zu keinen hypertensiven Blutdruckwerten trotz fehlender präoperativer Alpha-Blockade. Die Patientin berichtete jedoch über gelegentliche Kopfschmerzen und Epistaxis.

Familienanamnese:

Am Anfang gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese. Im Verlauf wurden weitere Angehörige mit der gleichen Mutation diagnostiziert. Nach der Diagnosestellung wurde ein Stammbaum erstellt.

Diagnostik und Befunde:

Sonographie: Solide Raumforderung von 8 cm Größe in linken Oberbauch mit einem kräftigen zuführenden Gefäß

Abdominelles CT: Bekapselte, zwischen Nierenstiel und Pankreas gelegene Raumforderung (Sarkom?), ca. 7 x 5 x 5 cm groß



Abbildung 3.45: CT Befund. Der Pfeil zeigt auf das Paragangliom.

Abdominelles MRT: Glatt berandete 7 x 6 x 5 cm große inhomogene solide Raumforderung retroperitoneal links zwischen Niere und Pankreasschwanz. Keine Infiltration von Nachbarorganen abgrenzbar. Keine Lymphadenopathie.



Abbildung 3.46: MRT Befund. Der Pfeil zeigt auf das Paragangliom.

MIBG-Szintigraphie: Präoperativ erfolgte keine MIBG-Szintigraphie. Postoperativ zeigte sich eine kleine Mehrspeicherung rechts am Unterrand der Leber, vereinbar mit einem kleinen Phäochromozytom.

Katecholamine-Bestimmung:

Präoperativ erfolgte keine Bestimmung der Katecholamine. Postoperativ zeigte sich eine normwertige Katecholaminausscheidung im Urin.

Therapie:

2009: Resektion eines extraadrenalen Paraganglioms unterhalb des linken Nierenstiels (konventionell-offen)

- Histologie: Extraadrenales retroperitoneales Paragangliom links, ca. 8 cm groß.

Verlauf:

Präoperativ erfolgte keine endokrinologische Diagnostik. Die postoperativ durchgeführte MIBG-Szintigraphie erbrachte eine suspekta kleine Mehrspeicherung rechts am Unterrand der Leber. Sowohl laborchemisch (Katecholaminausscheidung, Clonidin-Test) als auch bildgebend (MRT, CT) zeigte sich kein Hinweis auf ein Rezidiv oder eine Metastase des Paraganglioms.

Da in der Familienanamnese ein Nierenzellkarzinom beim Vater bekannt war, wurde der Verdacht auf ein VHL-Syndrom geäußert. Die MRT-Untersuchung vom Schädel und Wirbelsäule sowie die ophtalmologische Untersuchung erbrachte allerdings keinen Hinweis auf eventuelle VHL-Manifestationen.

Molekulargenetische Untersuchung:

VHL	Exon 1-3:	Normalbefunde
SDHD	Exon 1-4:	Normalbefunde
RET	Exon 10, 11, 13-16:	Normalbefunde

SDHB	Exon 1, 3, 5-8:	Normalbefunde
	Exon 2:	Abnormes Chromatogramm in der DHPLC. Die Sequenzierung ergab die Variante: SDHB Codon 60 ACT>GCT (Nukleotid 312 A>G) . Konsequenz auf Aminosäureebene: p. T60A .
	Exon 4:	Abnormes Chromatogramm in der DHPLC. Die Sequenzierung ergab die Variante: SDHB Codon 98 TGT>CGT (Nukleotid 426 T>C) . Konsequenz auf Aminosäureebene: p. C98R .

Kommentar: Bei der Patientin wurden im *SDHB*-Gen 2 Missense Varianten gefunden. Die Variante *SDHB* nt. 426 T>C war bereits in der Literatur als pathogen beschrieben, die Variante *SDHB* nt. 312 A>G schien ein Polymorphismus zu sein (SIFT-Analyse).

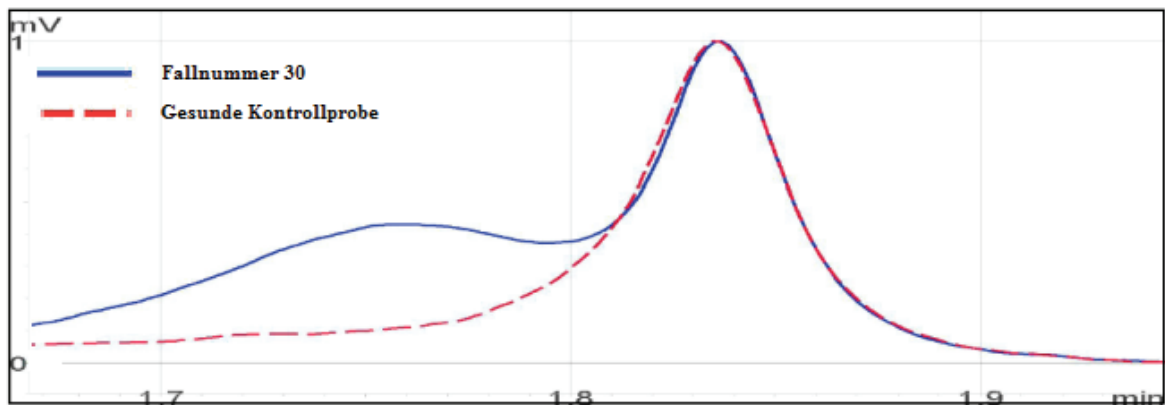


Abbildung 3.47: DHPLC-Befund. Das Chromatogramm der Patientin mit der Fallnummer 30 zeigt eine relevante Abweichung vom Normalbefund, hinweisend auf das Vorliegen einer *SDHB*-Mutation auf dem Exon 4. Ein Vergleich zu einer pathologischen Kontrollprobe war nicht möglich, da in der Freiburger Datenbank keine pathologische Kontrollprobe für die *SDHB*-Mutation nt. 426 T>C hinterlegt war. Diese Mutation wurde somit in Freiburg erstmalig bei der Patientin mit der Fallnummer 30 gefunden. Zur genauen Identifizierung der Mutation war die Sequenzierung von großer Bedeutung.

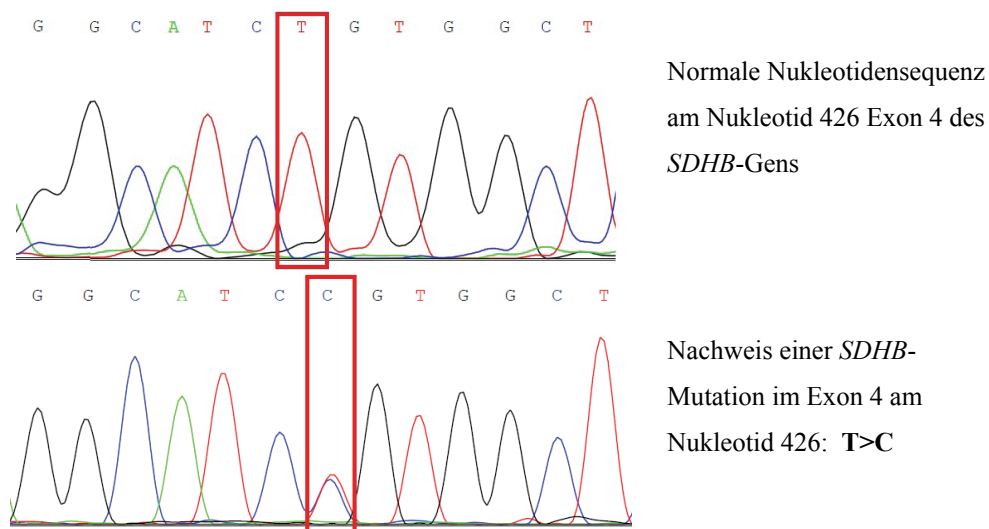


Abbildung 3.48: Sequenzierungsbefund der Patientin mit der Fallnummer 30 im Vergleich zu einer normalen Probe

Diagnose:

Extraadrenales Paragangliom unterhalb des Nierenstiels links, ca. 8 cm groß, im Rahmen eines PGL-4-Syndroms

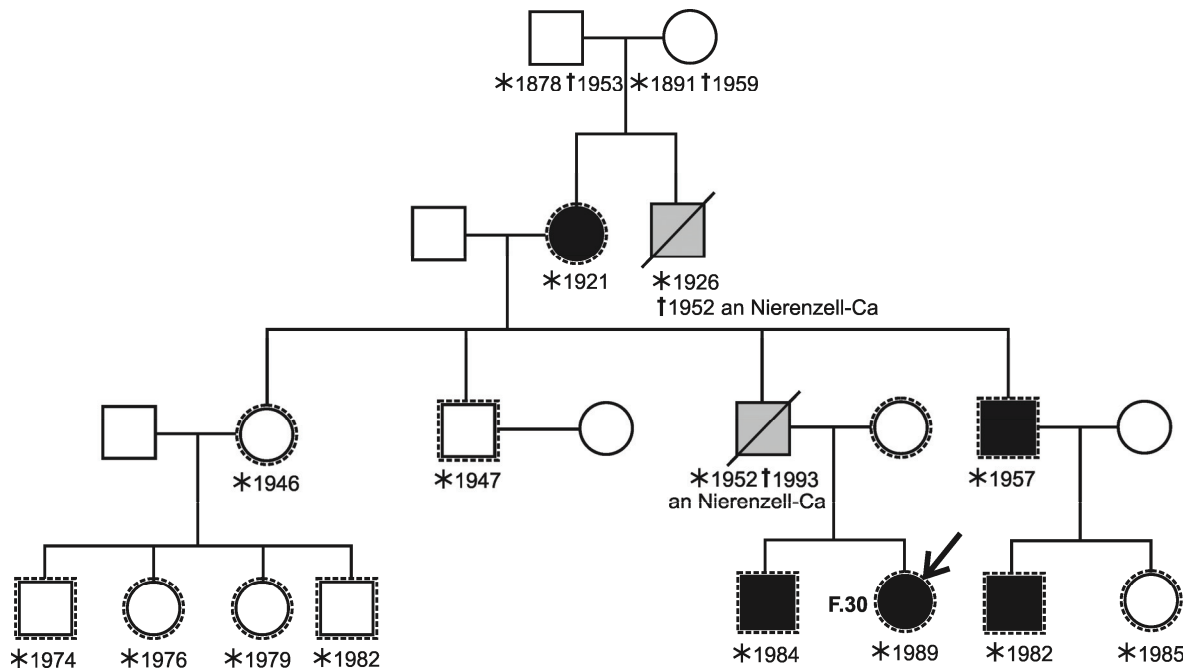
Stammbaum:

Abbildung 3.49: Mit schwarz sind die Träger der Mutation *SDHB* C98R markiert, mit weiß die unbetroffenen Angehörigen und mit grau die Angehörigen, bei denen die Erkrankung vermutet aber nicht gesichert war. Gestrichelt sind die Personen, die im Rahmen der Marburger Studie genetisch untersucht wurden. Der Pfeil zeigt auf den Indexpatienten.

Quadrat: männlich, Kreis: weiblich

*: Geburtsjahr, †: Todesjahr, Schrägstrich bedeutet verstorben

F.30: Fallnummer 30 der Marburger Studie

3.2 Tabellarische Darstellung der Patienten

Tabelle 3.1: Tabellarische Darstellung der Patienten

- w/m: weiblich / männlich
- Alter: Alter des Patienten bei Diagnosestellung
- Größe: Größe des Tumors (max. Durchmesser)
- Hormonelle Aktivität - angekreuzt sind die erhöhten Parameter, unterstrichen sind die repräsentativ erhöhten Parameter wenn mehrere Parameter erhöht sind
- Die mit Pfeil (→) markierten Patienten sind die Indexpatienten der Studie

Fall -Nr.	w/m	Alter	Krankheitsbild	Größe	Hormonelle Aktivität (Bestimmung im Urin)		Anlass der Untersuchung	Bezeichnung der Mutation
1 →	w	62	Glomus jugulare links	4 cm	keine		Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
2 →	m	33	Rezidivierendes malignes Paragangliom rechts zervikal	3 cm	keine		Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
3 →	m	34	Phäochromozytom der linken Nebenniere	7 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Dopamin		Inzidentalom	keine Mutation nachweisbar
4 →	m	53	Phäochromozytom der rechten Nebenniere	10 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Dopamin		Inzidentalom	keine Mutation nachweisbar
5 →	w	35	Phäochromozytom der rechten Nebenniere	5,2 cm	<input checked="" type="checkbox"/> <u>Adrenalin</u> <input checked="" type="checkbox"/> <u>Metanephrin</u> <input checked="" type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> <u>Noradrenalin</u> <input checked="" type="checkbox"/> <u>Normetanephrin</u>	Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
6 →	m	47	Phäochromozytom der linken Nebenniere	9 cm	<input checked="" type="checkbox"/> <u>Adrenalin</u> <input checked="" type="checkbox"/> <u>Metanephrin</u> <input type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> <u>Noradrenalin</u> <input checked="" type="checkbox"/> <u>Normetanephrin</u> <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
7 →	m	52	Phäochromozytom der linken Nebenniere	1,7 cm	<input checked="" type="checkbox"/> <u>Adrenalin</u> <input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Dopamin		Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
8 →	m	55	Phäochromozytom der rechten Nebenniere	6 cm	<input checked="" type="checkbox"/> <u>Adrenalin</u> <input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Dopamin		Symptomatik	keine Mutation nachweisbar

Fall -Nr.	w/m	Alter	Krankheitsbild	Größe	Hormonelle Aktivität (Bestimmung im Urin)		Anlass der Untersuchung	Bezeichnung der Mutation
9 →	w	54	Phäochromozytom der rechten Nebenniere	3,5 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input type="checkbox"/> VMA	Inzidentalom	keine Mutation nachweisbar
10 →	m	47	Phäochromozytom der linken Nebenniere	6,5 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin		Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
11 →	m	43	Phäochromozytom der rechten Nebenniere, ACTH- produzierend	6 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
12 →	w	48	Extraadrenales Paragangliom der rechten Nebennierenloge	5 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
13 →	w	65	Extraadrenales parakardiales Paragangliom	3 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Dopamin		Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
14 →	w	47	Extraadrenales interaortocavales Paragangliom	4 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Inzidentalom	keine Mutation nachweisbar
15 →	w	65	Malignes Phäochromozytom der linken Nebenniere ohne Metastasen im Verlauf	12 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
16 →	w	36	Malignes Phäochromozytom der linken Nebenniere mit multiplen Metastasen im Verlauf	5 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Normetanephrin <input type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	keine Mutation nachweisbar
17 →	m	33	Phäochromozytom beidseits (MEN 2A)	jeweils 6 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input checked="" type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	RET c. 634 TGC>TAC (p. C634Y)
18	m	38	Phäochromozytom beidseits (MEN 2A)	jeweils 2 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Screening	RET c. 634 TGC>TAC (p. C634Y)
19	m	71	Phäochromozytom beidseits (MEN 2A)	jeweils 1,5 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Normetanephrin <input type="checkbox"/> VMA	Screening	RET c. 634 TGC>TAC (p. C634Y)
20 →	m	25	Phäochromozytom beidseits (MEN 2A)	jeweils 2,5 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Dopamin		Screening	RET c. 634 TGC>CGC (p. C634R)
21	m	40	Phäochromozytom der rechten Nebenniere (MEN 2A)	6 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Normetanephrin <input type="checkbox"/> VMA	Screening	RET c. 634 TGC>CGC (p. C634R)

Fall-Nr.	w/m	Alter	Krankheitsbild	Größe	Hormonelle Aktivität (Bestimmung im Urin)		Anlass der Untersuchung	Bezeichnung der Mutation
22	m	26	Phäochromozytom beidseits und interaortocavales Paragangliom (MEN 2A)	jeweils 3 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Screening	RET c. 634 TGC>CGC (p. C634R)
23 →	w	59	Phäochromozytom beidseits (MEN 2A)	jeweils 2 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin	Inzidentalom	RET c. 634 TGC>CGC (p. C634R)
24	m	36	Phäochromozytom der rechten Nebenniere (MEN 2A)	2,5 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input type="checkbox"/> VMA	Screening	RET c. 634 TGC>CGC (p. C634R)
25 →	m	30	Phäochromozytom der linken Nebenniere mit Lokalrezidiv Nebennierenmarkhyperplasie rechts Paragangliom im Bereich des rechten Grenzstrangs (MEN 2A)	4 cm li. - 10 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Symptomatik	RET c. 790 TTG>TTT (p. L790F)
26 →	m	26	Phäochromozytom beidseits (MEN 2A)	5 cm li. 2,5 cm re.	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Screening	RET c. 634 TGC>CGC (p. C634R)
27 →	m	48	Extraadrenales (interaortocavales) Paragangliom (VHL) Phäochromozytom der linken Nebenniere Extraadrenales Paragangliom im Bereich des linken Nierenhilus	6 cm 2,2 cm 1,5 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input type="checkbox"/> VMA	Inzidentalom	VHL nt. 434 T>G (p. V74G)
28 →	w	34	Phäochromozytom der rechten Nebenniere (VHL)	4 cm	<input checked="" type="checkbox"/> Adrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input type="checkbox"/> Dopamin		Inzidentalom	VHL nt. 532 C>A (p. R107S)
29 →	w	53	Metastasiertes malignes Paragangliom DD Phäochromozytom der linken Nebenniere Phäochromozytom der rechten Nebenniere Glomustumor im Bereich der linken Carotisbifurkation (PGL-4)	10 cm 2 cm 2 cm	<input type="checkbox"/> Adrenalin <input type="checkbox"/> Metanephrin <input type="checkbox"/> Dopamin	<input checked="" type="checkbox"/> Noradrenalin <input checked="" type="checkbox"/> Normetanephrin <input checked="" type="checkbox"/> VMA	Inzidentalom	SDHB nt. 783 C>T (p. R217C)
30 →	w	20	Extraadrenales Paragangliom unterhalb des Nierenstiels links (PGL-4)	8 cm	Nicht untersucht		Inzidentalom	SDHB nt. 426 T>C (p. C98R)

4 Diskussion

Eine hereditäre Prädisposition für Phäochromozytome und extraadrenale Paragangliome ist im Rahmen bestimmter Syndrome, z.B. MEN 2, VHL und NF1, seit vielen Jahren bekannt. Auch die beteiligten Gene wurden identifiziert, und zwar das *RET*-Gen für das MEN 2-Syndrom, das *VHL*-Gen für das VHL-Syndrom und das *NF1*-Gen für das NF1-Syndrom. Über die letzten Jahre erbrachten die intensiven molekulargenetischen Untersuchungen relevante Mutationen auch im Bereich des *SDHB*-, *SDHC*- und *SDHD*-Gens, und neulich im Bereich des *SDHAF2*- und *TMEM127*-Gens. Es entstand somit eine neue klinische und molekulargenetische Klassifikation der Phäochromozytome, die auch die PGL-Syndrome 1 bis 4 einschließt. Signifikante Fragen zu einem Zusammenhang zwischen den jeweiligen Mutationen und dem Alter bei Tumorentstehung, der Multifokalität und der Dignität der Phäochromozytome und extraadrenalen Paragangliome wurden von vielen Forschungsgruppen gestellt. Eine der repräsentativsten Studien mit diesem Thema wurde in der Arbeit von Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann in "New England Journal of Medicine" vom Jahr 2002 dargestellt [Neumann *et al.* 2002]. Die Freiburger Forschungsgruppe von Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann fand damals überraschende Ergebnisse mit einer Prävalenz der Mutationen bei initial nicht bekannten syndromalen Phäochromozytomen von bis 24%. Die Studie erbrachte auch eine signifikante Assoziation zwischen den nachgewiesenen Mutationen und jungem Alter, multifokalen Tumoren und extraadrenaler Lokalisation.

Die vorgelegte Dissertation entstand in Zusammenarbeit mit der Freiburger Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann, mit dem Ziel, ein repräsentatives Marburger Patientengut mit Phäochromozytomen und extraadrenalen Paragangliomen zusammenzustellen und mit den verfügbaren molekulargenetischen Methoden zu charakterisieren. Zur molekulargenetischen Untersuchung wurden Proben von insgesamt 25 Indexpatienten und von weiteren 26 Personen im Rahmen des Familienscreenings im Freiburger Labor von Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann untersucht. Ziel war die Untersuchung des *RET*-Gens mit den Exons 10, 11, 13-16 sowie der Gene *VHL*, *SDHB* und *SDHD* mit allen Exons.

Patientenkollektiv

Von den 25 Indexpatienten wurden Mutationen bei neun Personen nachgewiesen, das entspricht einem Prozentsatz von ca. 36%. Von den neun Indexpatienten fünf Personen wiesen Mutationen im Bereich des *RET*-Gens (56%) auf, zwei Personen im Bereich des

VHL-Gens (22%) und zwei Personen im Bereich des *SDHB*-Gens (22%). Im Vergleich präsentierte die Arbeit von Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann in "New England Journal of Medicine" vom Jahr 2002 eine Prävalenz der Mutationen bei initial nicht bekannten syndromalen Phäochromozytomen von ca. 24%, betrachtet zu einem Patientengut von insgesamt 271 Indexpatienten mit Phäochromozytomen und Paragangliomen von Deutschland, Polen und USA [Neumann *et al.* 2002]. Von den 66 Patienten mit einer nachweisbaren Mutation wiesen 30 Personen eine *VHL*-Mutation auf (ca. 46%), 13 Personen eine *RET*-Mutation (ca. 20%), 12 eine *SDHB*-Mutation (ca. 18%) und 11 Personen eine *SDHD*-Mutation (ca. 17%). Im Rahmen einer zweiten großen Studie aus Frankreich mit 301 Patienten mit Phäochromozytomen und Paragangliomen (mit NF1 waren 314), die in „Journal of Clinical Oncology“ im Jahr 2005 publiziert wurde, wurden bei 73 Patienten relevante Mutationen nachgewiesen (mit NF1 waren es 84 Patienten) [Amar *et al.* 2005]. Das entspricht einer ähnlichen Prävalenz von 24%. Von den 73 Patienten mit einer nachweisbaren Mutation wiesen 25 Personen eine *VHL*-Mutation auf (ca. 34%), 16 Personen eine *RET*-Mutation (ca. 22%), 21 eine *SDHB*-Mutation (ca. 29%) und 11 Personen eine *SDHD*-Mutation (ca. 15%). Ähnliche Untersuchungen wurden auch in kleineren Studien durchgeführt. Zum Beispiel, eine in „Annals of the New York Academy of Science“ im Jahr 2006 publizierte italienische Studie erfasste 45 Patienten mit Phäochromozytomen oder Paragangliomen [Castellano *et al.* 2006]. Davon wurden bei 10 Patienten relevante Mutationen nachgewiesen (Prävalenz 22%), vier waren *VHL*-Mutationen (40%), fünf waren *SDHB*-Mutationen (50%) und ein Patient wies eine *SDHD*-Mutation (10%) auf. In dieser Studie konnten keine *RET*-Mutationen identifiziert werden. Weitere kleinere Studien erbrachten leicht unterschiedliche Ergebnisse [Brauch *et al.* 1997, Bar *et al.* 1997, Arnold 1996].

Von den 25 Indexpatienten des Marburger Kollektivs waren 12 Frauen und 13 Männer. Von den neun Indexpatienten mit einer nachweisbaren Mutation waren vier Frauen und fünf Männer. Eine Geschlechtspräferenz der Phäochromozytome oder der hereditären Syndrome zeigte sich in unserer Studie nicht. Die Studie erfasst zwei Fälle nur mit Glomustumoren, 12 Fälle mit unilateralen Phäochromozytomen, vier Fälle mit bilateralen Phäochromozytomen, vier Fälle nur mit jeweils einem extraadrenalen Paragangliom, sowie drei Fälle mit Phäochromozytomen und Paragangliomen. Bei den zwei Fällen mit Glomustumoren konnten keine Mutationen nachgewiesen werden. Von den 12 unilateralen Phäochromozytomen 11 waren sporadische Tumoren, lediglich bei einem Phäochromozytom wurde eine *VHL*-Mutation nachgewiesen. Alle vier bilateralen

Phäochromozytome wiesen eine *RET*-Mutation auf. Von den vier extraadrenalen Paragangliomen waren drei sporadische Tumoren, beim vierten Patienten wurde eine *SDHB*-Mutation nachgewiesen. Das Spektrum der Mutationen bei den drei Fällen mit sowohl Phäochromozytomen als auch Paragangliomen war breit, mit Nachweis von *RET*-, *VHL*-, und *SDHB*-Mutationen. Von den 25 Indexpatienten fünf hatten maligne Phäochromozytome oder Paragangliome. Drei davon wiesen keine Mutationen auf, während bei den anderen zwei Patienten eine *RET*- bzw. eine *SDHB*-Mutation nachgewiesen wurde (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: Patientenkollektiv der Marburger Studie

Geschlechtsverteilung	12 Frauen	13 Männer
Mutationsnachweis	9 Patienten mit Mutationsnachweis (36%)	16 Patienten ohne Mutationsnachweis (64%)
Tumorlokalisation	<ul style="list-style-type: none"> - 2 Patienten mit Glomustumoren - 12 Patienten mit unilateralen Phäochromozytomen - 4 Patienten mit bilateralen Phäochromozytomen - 4 Patienten mit extraadrenalen Paragangliomen - 3 Patienten mit Phäochromozytomen und Paragangliomen 	
Tumordignität	20 benigne Erkrankungen	5 maligne Erkrankungen

Anhand der oben genannten Befunde kann das Patientengut von 25 Indexpatienten als repräsentativ betrachtet werden. Die von der Marburger Studie errechnete Prävalenz der Patienten mit einer relevanten Mutation scheint allerdings im Vergleich zu der Prävalenz der Freiburger Studie und der französischen Studie leicht höher zu sein (36% vs. 24%). Der Unterschied erklärt sich am ehesten durch die Tatsache, dass vor allem die komplexeren Fälle im Sinne von Phäochromozytomen im Rahmen eines Syndroms in einem spezialisierten Universitätsklinikum behandelt werden. Die Unterschiede in den Prozentanteilen hinsichtlich der einzelnen Syndrome (MEN, VHL und PGL) sind am ehesten auf das unterschiedlich große Patientengut zurück zu führen.

Zusätzlich zu den 25 Indexpatienten wurden weitere 26 Personen im Rahmen des Familienscreenings rekrutiert. Von den 26 Proben wurden fünf nicht untersucht, da beim entsprechenden Indexpatienten keine Mutation nachgewiesen wurde. Von den restlichen 21 Proben wurde es gezielt nach die Mutation des entsprechenden Indexpatienten untersucht. Elf Patienten wiesen dabei die Mutation auf, und zehn Patienten nicht. Von den elf Patienten mit einer nachgewiesenen Mutation wurden fünf Fälle selektioniert und in

dieser Arbeit ausführlich vorgestellt. Es handelt sich dabei um die Patienten mit der Fallnummer 18 und 19 (Indexpatient mit der Fallnummer 17), 21 und 22 (Indexpatient mit der Fallnummer 20), sowie 24 (Indexpatient mit der Fallnummer 23). In der Statistik der Marburger Studie wurden diese fünf Patienten nicht eingeschlossen, sondern nur die Indexpatienten.

Altersverteilung

Das Durchschnittsalter der 25 Indexpatienten in unserer Studie liegt bei 43,4 Jahren mit einer Altersspanne von 20 bis 65 Jahren. Der 71-jährige Patient mit der Fallnummer 19 wurde in der Statistik nicht eingeschlossen, da er kein Indexpatient war. Das Phäochromozytom kann somit in jedem Lebensalter auftreten, ein Häufigkeitsspiegel scheint allerdings um das 40. Lebensjahr zu bestehen. Das Durchschnittsalter der neun Indexpatienten mit einer nachgewiesenen Mutation liegt bei 36,4 Jahren mit einer Altersspanne von 20 bis 59 Jahren, während das Durchschnittsalter der Patienten mit Phäochromozytom oder Paragangliom aber ohne eine nachweisbare Mutation bei 47,3 Jahren mit einer Altersspanne von 33 bis 65 Jahren liegt. Der Unterschied ist relevant und weist darauf hin, dass ein Phäochromozytom im jüngeren Alter auf ein hereditäres Syndrom verdächtig ist. Auch die Altersverteilung der Marburger Studie zeigt eindeutig, dass bei den Patienten in den Altersgruppen 18-20 und 21-30 Jahren immer eine Mutation nachgewiesen werden konnte, während ab dem 60. Lebensjahr die Prävalenz der hereditären Phäochromozytomen null war (Abbildung 4.1).

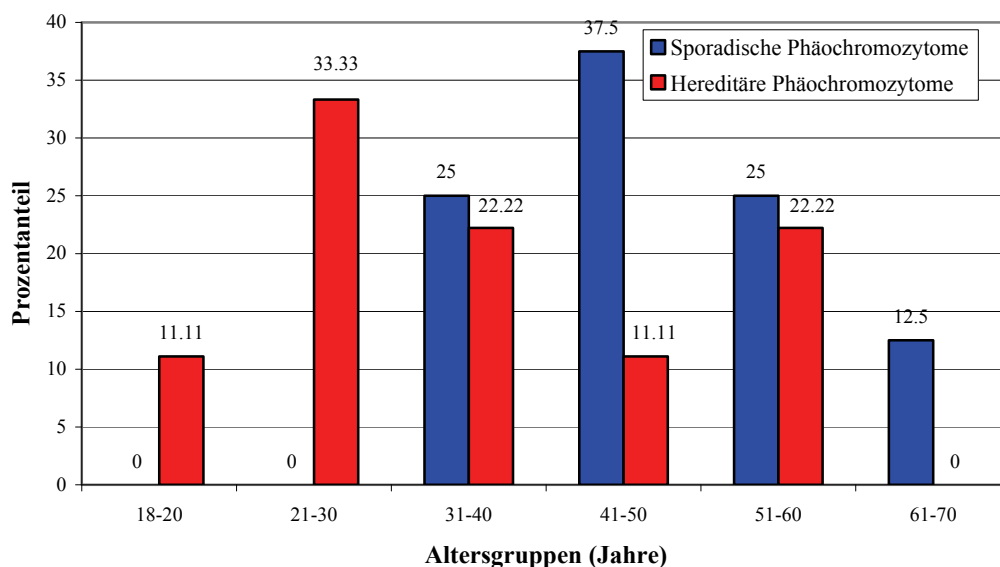


Abbildung 4.1: Altersverteilung bei sporadischen und hereditären Phäochromozytomen

Auch in der Literatur ist die Altersverteilung zum Zeitpunkt der Diagnosestellung relativ breit. Die Arbeit von Gimenez-Roqueplo *et al.* zeigte eine Altersspanne von 5 bis 69 Jahren bei den Mutationsträgern und vom 4 bis 81 Jahren in der Gruppe der sporadischen Phäochromozytomen [Gimenez-Roqueplo *et al.* 2006]. Das bedeutet, dass in allen Altersgruppen die Patienten klinisch und laborchemisch auf das Vorliegen von syndromalen Manifestationen untersucht werden sollten. Umstritten bleibt jedoch die Frage, bis zu welchem Alter genetische Untersuchung auf die bisher in der Literatur bekannten Mutationen durchgeführt werden sollten. Erlic *et al.* stellte in einer großen Studie fest, dass das Alter ≤ 45 Jahren der sinnvollster Cutt-off-Wert zur Prädiktion einer genetischen Mutation ist und bestätigte seine Ergebnisse mittels einer multivariablen Analyse [Erlic *et al.* 2009].

In unserem Patientenkollektiv fanden sich allerdings drei Indexpatienten mit einer nachgewiesenen Mutation, die bei der Diagnosestellung älter als 45 Jahre waren. Der Patient mit der Fallnummer 27 war bei der Diagnosestellung des Phäochromozytoms 48 Jahre alt, beim ihm war allerdings seit dem 33. Lebensjahr ein VHL-Syndrom bekannt. Die Patientin mit der Fallnummer 23 war bei Diagnosestellung 59 Jahren alt. Bei ihr fielen im Rahmen einer MRCP bei Verdacht auf eine stattgehabte Gallenkolik unklare Raumforderungen in beiden Nebennierenloggen auf. Bei der Patientin war bereits eine arterielle Hypertonie bekannt, sie wies stationär auch eine Sinustachykardie bis 160 Schläge/min auf. Zunächst gab es hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms eine negative Familienanamnese, erst nach der Diagnosestellung wurden weitere Angehörige mit MEN 2A-Syndrom diagnostiziert, einschließlich die Tochter und der Sohn der Patientin im Alter von 37 bzw. 36 Jahren. Im Rahmen des Familienscreenings wiesen beide Kinder der Patientin bereits alle Manifestationen des MEN 2A-Syndroms auf. Eine genetische Untersuchung war in diesem Fall sehr hilfreich. Die Patientin war zwar älter als 45 Jahre, ihr Fall erfüllte jedoch andere Kriterien für eine genetische Untersuchung, wie z.B. die klinischen Manifestationen eines MEN 2A-Syndroms (C-Zell-Carzinom und Hyperparathyreoidismus).

Die Patientin mit der Fallnummer 29 war bei Diagnosestellung im Alter von 48 Jahren. Seit 6 Jahren war bei der Pat. eine arterielle Hypertonie mit rezidivierenden Blutdruckwerten über 200 mmHg bekannt. Im Rahmen eines Hausarztwechsels wurde durch eine Abdomensonographie eine große Raumforderung im Leberhilus diagnostiziert. Die weitere Abklärung erbrachte laborchemisch und bilgebend den Befund eines metastasierten malignen Paraganglioms DD Phäochromozytoms der rechten Nebenniere in

Größe von ca. 10 cm mit multiplen abdominellen Tumorformationen sowie den Nachweis eines Phäochromozytoms der linken Nebenniere. Im Verlauf wurde auch ein ca. 2 cm großer Glomustumor im Bereich der linken Carotisbifurkation festgestellt. Die genetische Untersuchung erbrachte den Befund eines PGL-4-Syndroms mit Nachweis einer *SDHB*-Mutation (*SDHB* nt. 783 C>T, p. R217C). Die Patientin war bei der Diagnosestellung zwar älter als 45 Jahre, ihr Fall erfüllte jedoch andere Kriterien für die Indikation zur Durchführung einer genetischen Untersuchung, wie z.B. die Malignität des Tumors.

Zusammengefasst wäre der von Erlic *et al.* definierte Cutt-off-Wert von ≤ 45 Jahren auch in unserer Studie einsetzbar gewesen. Mit diesem Wert hätten wir keinen Patienten mit einer genetischen Mutation übersehen, so lange andere Kriterien mitberücksichtigt werden wie z.B. die Familienanamnese, klinische Manifestationen im Sinne eines genetischen Syndroms, Bilateralität, Lokalisation und Dignität des Tumors.

Wenn keine weiteren Kriterien bis auf das Alter von ≤ 45 Jahren vorliegen, besteht dann schon die Indikation zu einer genetischen Untersuchung. Die Patientin mit der Fallnummer 28 war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 34 Jahre alt. Bei ihr wurde die Diagnose eines ca. 4 cm großen Phäochromozytoms der rechten Nebenniere im Rahmen einer endokrinologischen Diagnostik zur Abklärung des klinischen Bildes einer Hyperandrogenämie mit Hirsutismus gestellt. Die Hyperandrogenämie wurde später als Ausdruck eines polyzystischen Ovarialsyndroms interpretiert. Phäochromozytom-typische Symptome wurden von der Patientin verneint. Auch die Familienanamnese war bei der Patientin hinsichtlich Phäochromozytome oder Paragangliome negativ. Da im Verlauf bei der Patientin ein primärer Hyperparathyreoidismus diagnostiziert wurde, erfolgte in den 90en Jahren eine genetische Untersuchung des *RET*-Gens, die allerdings keine Mutationen erbrachte. Die im Rahmen der aktuellen Studie durchgeführte genetische Analyse erbrachte 14 Jahre nach der Diagnosestellung den Befund eines VHL-Syndroms mit dem Nachweis einer *VHL*-Mutation (*VHL* nt. 532 C>A, p. R107S). Die daraufhin durchgeführten MRT Untersuchungen des Kopfes, des Rückenmarkes und des Abdomens sowie die augenärztliche Kontrolle erbrachte keine weiteren typischen Organmanifestationen des VHL-Syndroms. Anhand der MRT-Bilder konnte allerdings die Diagnose eines niedrig malignen Non-Hodgkin-Lymphoms gestellt werden. Bisher wurde in der Literatur keine Korrelation zwischen einem VHL-Syndrom und einem Non-Hodgkin-Lymphom festgestellt.

Molekulargenetisches Screening-Algorithmus

Nachdem die Indikation zur Durchführung eines genetischen Testes bei einem Patienten mit Phäochromozytom gestellt wurde, könnten weitere klinische und laborchemische Kenndaten über die Tumoren dem Genetiker helfen, die sinnvollste, schnellste und günstigste Reihenfolge zu wählen, in der die in der Literatur bekannten Mutation zu untersuchen sind. Zum Beispiel, eine führende Überproduktion von Adrenalin und Metanephrin weist auf das Vorliegen eines MEN 2- oder NF1-Syndroms hin, während Noradrenalin und Normetanephrin produzierende Phäochromozytome am ehesten für ein VHL-Syndrom sprechen. Gleichzeitig erhöhte Ausscheidung von Noradrenalin und Dopamin war bei einigen PGL-4-Syndromen auffällig.

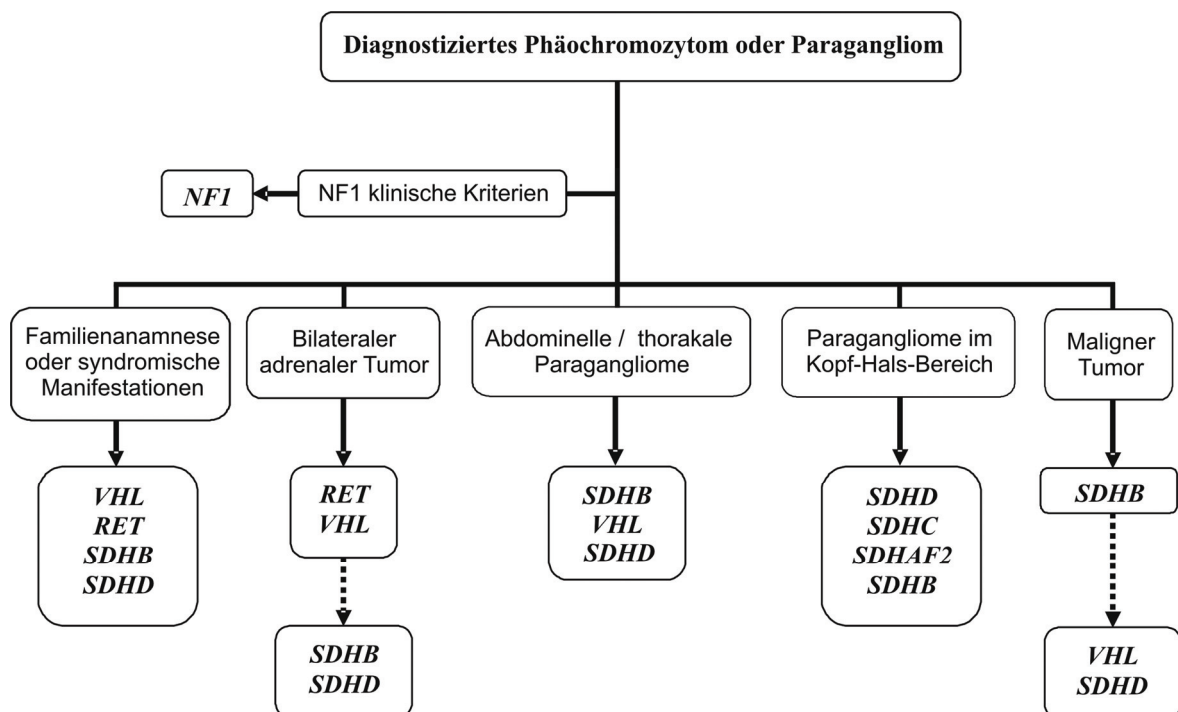


Abbildung 4.2: Algorithmus für genetische Untersuchungen bei Phäochromozytomen und Paragangliomen. Eine genetische Analyse sollte vor allem bei jungen Patienten (Alter < 45 Jahre) durchgeführt werden, oder wenn ein anderes Kriterium (Bilateralität, extraadrenale Lokalisation, maligne Dignität, positive Familienanamnese oder Vorliegen anderer klinischer Manifestationen im Sinne eines genetischen Syndroms) erfüllt wird. Der biochemische Phänotyp sollte auch mitberücksichtigt werden, wenn die Reihenfolge der untersuchten Gene festgelegt wird. Die neulich identifizierten Mutationen im *SDHA*- und *TMEM127*-Gen sollten in speziellen Fällen auch geprüft werden [Gimenez-Roqueplo *et al.* 2006]

Da die bilateralen Phäochromozytome üblicherweise mit einem MEN 2- oder VHL-Syndrom assoziiert sind, sollte man in diesem Fall zunächst auf Mutationen im *RET*- und *VHL*-Gen untersuchen, anschließend im *SDHB*- und *SDHD*-Gen. Bei Patienten mit Katecholamin-produzierenden abdominalen Paragangliomen sollte ein Screening der *SDHB*-, *VHL*- und *SDHD*-Mutationen erfolgen, vor allem wenn die Tumoren multifokal

sind. Mutationen des *SDHC*-Gens wurden lediglich bei parasympathischen Paragangliomen nachgewiesen. Eine Untersuchung auf *SDHC*-Mutationen ist somit nur bei Paragangliomen im Kopf-Hals-Bereich sinnvoll, wobei bei diesen Patienten die Reihenfolge *SDHD*, *SDHC*, *SDHAF2* und *SDHB* wenn möglich beibehalten werden sollte. Laut Studien weisen bis 50% der Patienten mit einem malignen Paragangliom eine Mutation des *SDHB*-Gens auf. Die genetische Untersuchung auf das *SDHB*-Gen ist somit vor allem bei Patienten mit einem malignen Phäochromozytom oder Paragangliom sinnvoll (Abbildung 4.2). Die Familienanamnese ist zwar oft hilfreich zur Erkennung von MEN 2-, VHL- und NF1-Syndromen, haben allerdings nur 10% der Patienten mit einer *SDHB*-Mutation eine positive Familienanamnese hinsichtlich eines Phäochromozytoms oder Paraganglioms [Gimenez-Roqueplo *et al.* 2006].

Die Diagnose eines NF1-Syndroms wird meistens anhand der klinischen Symptomatik gestellt, eine genetische Untersuchung ist somit selten erforderlich. In wenigen Fällen, wenn die genetische Analyse auf *RET*, *VHL* und *SDH*-Untereinheiten keine Mutationen erbringt, ist eine genetische Untersuchung des *NF1*-Gen vielleicht sinnvoll.

Relevanz der genetischen Untersuchung

In mehreren Fällen war es anhand der klinischen Manifestationen mit Vorliegen auch eines primären Hyperparathyreoidismus oder eines C-Zell-Karzinoms eindeutig, dass es sich bei diesen Patienten um ein genetisches Syndrom, und zwar um ein MEN 2A-Syndrom handelte. Für die Indexpatienten war somit der Nachweis einer Mutation nicht direkt sehr hilfreich, eine genetische Analyse war jedoch von großer Bedeutung vor allem im Rahmen des familiären Screenings. Sobald eine Mutation beim Indexpatienten nachgewiesen wird, z.B. *RET* c. 634 TGC>TAC, p. C634Y, könnten alle anderen willigen Angehörigen explizit auf diese Mutation untersucht werden. Wird die Mutation bei ihnen nicht nachgewiesen, brauchen die jeweiligen Angehörigen keine weiteren laborchemischen und bildgebenden Untersuchungen im Sinne einer regelmäßigen Vorsorge beim in der Familie bekannten Syndrom. Es wird dadurch Geld und Zeit gespart, und vor allem den Patienten die Unsicherheit erspart, dass sie irgendwann vielleicht doch an einer Manifestation des familiären Syndroms erkranken werden.

Darüber hinaus kann der Nachweis einer Mutation des *RET*-Gens extrem relevant bei Kindern sein. Wie bereits bekannt ist, ist das C-Zell-Karzinom eine häufige Todesursache der Betroffenen, wenn die Diagnose nicht frühzeitig gestellt wird. Bei Indexpatienten sind

zum Zeitpunkt der Diagnosestellung häufig schon zervikale und mediastinale Lymphknotenmetastasen nachweisbar, und der weitere Verlauf wird dann durch das Auftreten von Leber-, Lungen- und Knochenmetastasen beeinflusst. Das MEN 2-Syndrom gehört allerdings zu den wenigen erblichen Krebserkrankungen, bei dem eine frühzeitige prophylaktische Operation im Sinne einer totalen Thyreoidektomie eine sichere kurative Therapie möglich macht. Umstritten bleibt lediglich das Alter, wann die elektive Thyreoidektomie am sinnvollsten ist. Mehrfache Studien auf die Genotyp-Phänotyp Korrelation bei MEN 2-Syndrom haben dazu beigebracht, diese Frage zu beantworten, indem es versucht wurde, das potentielle Risiko für das Auftreten von lokalen und Fernmetastasen im frühen Alter bei den jeweiligen *RET*-Mutationen zu beurteilen.

Tabelle 4.2: Empfohlener Zeitpunkt zur prophylaktischen Thyreoidektomie im Kindesalter abhängig von der vorliegenden *RET*-Mutation und dem entsprechend eingeschätzten Risiko für das Auftreten von lokal und Fernmetastasen in frühem Alter [Brandi *et al.* 2001, Machens *et al.* 2005, Skinner *et al.* 2005, Machens *et al.* 2007, American Thyroid Association Guidelines Task Force *et al.* 2009].

Risiko fürs Auftreten von Metastasen in frühem Alter	<i>RET</i>-Mutationen	Empfohlener Zeitpunkt zur prophylaktischen Thyreoidektomie
Sehr hohes Risiko	883, 918, 922, 804-805, 804-806, 804-904	- im 1. Lebensjahr
Hohes Risiko	634	- 2. - 4. Lebensjahr
Mittleres Risiko	609, 611, 618, 620, 630, 804-778	- vor dem 6. Lebensjahr
Geringes Risiko	533, 666, 768, 790, 804, 891, 912	- vor dem 10. Lebensjahr oder beim auffälligen Stimulationstest

Bei *RET*-Mutationen in den Codons 883, 918 und 804 (bzw. 804-805, 804-806, 804-904) wird das Risiko sehr hoch eingeschätzt und somit eine Operation bereits im ersten Lebensjahr empfohlen. Eine prophylaktische Thyreoidektomie zwischen dem 2. und 4. Lebensjahr ist beim Nachweis einer *RET*-Mutation im Codon 634 empfehlenswert. Die Patienten mit *RET*-Mutationen in den Codons 609, 611, 618, 620, 630 und 804 (bzw. 804-778) sollten zu einer Operation vor dem Schulalter beraten werden. Bei den Patienten mit *RET*-Mutationen in den Codons 533, 666, 768, 790, 804 (einzelne Mutation), 891 oder 912 kann die Operation bis vor dem 10. Lebensjahr verschoben werden, oder wenn der Pentagastrin-Stimulationstest auffällig wird [Brandi *et al.* 2001, Machens *et al.* 2005, Skinner *et al.* 2005, Machens *et al.* 2007, American Thyroid Association Guidelines Task Force *et al.* 2009] (Tabelle 4.2). Diese Angaben sind allerdings nur orientierend, jeder Fall ist einzeln zu betrachten.

Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Genotyp-Phänotyp-Analysen sind nicht nur aus akademischen Gründen von Bedeutung. Anhand der Kenntnisse über die einzelnen Mutationen und die erwartenden Manifestationen könnten praktische und Patienten-individuelle Diagnostik- und Therapie-Strategien eingesetzt werden. Wie relevant die Einteilung der Patienten in verschiedene Risikogruppen anhand des Mutationsnachweises ist, wurde in der oben erwähnten Diskussion bezüglich des richtigen Zeitpunktes zur elektiven prophylaktischen Thyreoidektomie im Kindesalter evident. Auch die Diagnostikstrategien im Rahmen von Nachsorgen bzw. Verlaufskontrollen könnten durch eine sichere Genotyp-Phänotyp-Korrelation geändert und kontinuierlich an den aktuellen Kenntnisstand angepasst werden. Aber wie zuverlässig ist eigentlich die Phänotyp-Genotyp-Korrelation einzelner Mutationen beim Phäochromozytom?

In der Literatur wurde es zunächst ausführlich über den Phänotyp unterschiedlicher Syndrome diskutiert. Die Arbeit von Eisenhofer *et al.* hat sich vor allem mit den klinischen und laborchemischen Unterschieden bei MEN 2A-Syndrom im Vergleich zu VHL-Syndrom beschäftigt [Eisenhofer *et al.* 2001]. Die MEN 2A-Patienten waren in der Studie häufiger und ausgeprägter symptomatisch als die VHL-Patienten. Laborchemisch konnten höhere Metanephrin Spiegel im Serum bei MEN 2A-Patienten nachgewiesen werden, während die VHL-Patienten eher höhere Normetanephrin Spiegel aufwiesen. Darüber hinaus konnten kleinere Mengen an Tyrosinhydroxylase (TH) und Phenylethanolamin-N-Methyltransferase (PNMTase) im Tumorgewebe bei VHL-Patienten als bei MEN 2A-Patienten nachgewiesen werden. Zusammengefasst wiesen die MEN 2A-Patienten aufgrund der eindeutig besser exprimierten TH und PNMTase einen adrenergischen Phänotyp mit intensiverer Biosynthese der Katecholamine auf. Weitere Phänotyp-Genotyp-Analysen und Vergleichuntersuchungen der bekannten Syndrome haben unter anderen gezeigt, dass zum Beispiel die Träger der *SDHB*-Mutationen ein höheres Risiko für Malignität bzw. für maligne Phäochromozytome und Paragangliome aufweisen [Neumann *et al.* 2004, Gimenez-Roqueplo *et al.* 2003].

Im Verlauf haben sich die Forscher mit Phänotyp-Genotyp-Korrelationen im Rahmen eines einzigen Syndroms beschäftigt. Phänotypisch zeigen zum Beispiel alle *RET*-Mutationen auf Codon 634 eine hohe Wahrscheinlichkeit, an einem Phäochromozytom sowie an einem primären Hyperparathyreoidismus zu erkranken [Eng *et al.* 1996, Yip *et al.* 2003]. Die Penetranz des primären Hyperparathyreoidismus bei Mutationen auf Codon 634 liegt bei

ca. 20% mit einer Variabilität von jedoch 9% bis 34% innerhalb einer Familie [Schuffenecker *et al.* 1998]. Auch das C-Zell-Karzinom bei Mutationen auf Codon 634 scheint aggressiv zu sein, solche Patienten werden in die Gruppe mit hohem Risiko eingestuft [Brandi *et al.* 2001, Machens *et al.* 2005, Skinner *et al.* 2005, Machens *et al.* 2007]. Mutationen auf Codon 634 wurden im Vergleich zu den anderen *RET*-Mutationen ebenfalls mit der Entwicklung von kutanem Lichen amyloidosus häufiger assoziiert [Seri *et al.* 1997]. *RET*-Mutationen auf Codon 804 des Exons 14 hingegen sind hauptsächlich für C-Zell-Karzinom verantwortlich, selten wurden jedoch Phäochromozytome auch bei Patienten mit solchen Mutationen nachgewiesen [Nilsson *et al.* 1999, Gibelin *et al.* 2004, Jimenez *et al.* 2004]. Eine Studie wies darauf hin, dass Mutationen auf Codon 804 (und 790) zusätzlich zum C-Zell-Karzinom auch zum papillären Schilddrüsen-Karzinom assoziiert werden [Brauckhoff *et al.* 2002]. In einer großen italienischen Familie wiesen 40% der Angehörigen mit einer V804M Mutation gleichzeitig C-Zell-Karzinom und papilläres Schilddrüsen-Karzinom auf [Shifrin *et al.* 2009]. Bei V804M Mutation wurde in Einzelfällen auch ein kutaner Lichen amyloidosus nachgewiesen [Rothberg *et al.* 2009].

Weitere Studien haben es möglich gemacht, sogar Genotyp-Phänotyp-Korrelationen bei einzelnen Mutationen zu finden. Es wurde somit nachgewiesen, dass bestimmte Aminosäureaustausche einen direkten Einfluss auf die Aggressivität des Tumors nehmen. Ein Bericht über 12 brasilianische Familien zeigte zum Beispiel, dass Patienten mit C634R Mutationen mehr Fernmetastasen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung als die C634Y oder C634W Mutationen aufweisen. Darüber hinaus scheinen die Lymphknoten- und Fernmetastasen bei C634Y Mutationen später als bei den Patienten mit C634R Mutationen aufzutreten [Puñales *et al.* 2003].

Eine lückenlose Analyse der Genotyp-Phänotyp-Korrelation sowie der Penetranz einer nachgewiesenen Mutation erfordert einschließlich die Untersuchung von großen Familien und der Variabilität der entsprechenden Manifestationen bei den betroffenen Angehörigen. Zu den insgesamt 25 Indexpatienten der Marburger Studie wurden weitere 26 Proben zur molekulargenetischen Untersuchung im Rahmen des Familienscreenings abgenommen, davon allerdings 21 Proben molekulargenetisch untersucht. Elf Patienten wiesen dabei die untersuchte Mutation auf. Fünf Patienten davon, von insgesamt drei MEN 2A-Familien, wurden selektioniert und in dieser Arbeit ausführlich vorgestellt.

Im Fall des Indexpatienten mit der Fallnummer 17 wurde bei ihm, seinem Vater und seinem Bruder die Mutation *RET* c. 634 TGC>TAC (p. C634Y) nachgewiesen, während

seine Schwester keine Mutation aufwies. Die drei Carrier der Mutation wurden innerhalb desselben Jahres diagnostiziert und abhängig von den Beschwerden gleich behandelt. Der Indexpatient wurde durch die vom Phäochromozytom verursachte Symptomatik auffällig, zum Zeitpunkt der Diagnosestellung wies er allerdings bereits ein C-Zell-Karzinom im Stadium mpT1 pN1a pMx, L0 V0 R0 mit intraoperativ nachgewiesenen zervikalen Lymphknotenmetastasen auf. Postoperativ zeigte sich weiterhin ein leicht erhöhter Calcitonin-Wert, verdächtig auf Mikrometastasen des C-Zell-Karzinoms. Bildgebend konnte jedoch kein wesentliches morphologisches Korrelat eruiert werden. Im weiteren Verlauf zeigte sich beim Indexpatienten ein stabiler Status. Beim mit 4 Jahren jüngeren Bruder des Indexpatienten zeigten sich bei der Diagnosestellung ebenfalls ein beidseitiges Phäochromozytom sowie ein C-Zell-Karzinom mit multiplen Lymphknotenmetastasen im Stadium mpT2 pN1b pMx, L0 V1. Nach der initialen Thyreoidektomie mit zentraler und lateraler Lymphknotendisektion beidseits war weiterhin ein erhöhter Calcitonin-Wert auffällig. Bei positivem MRT-Hals erfolgten im Verlauf eine selektive Neck-dissektion Level II rechts mit intraoperativer Punktion einer unklaren Raumforderung des M. masseter rechts sowie einige Monate später eine erneute Lymphknotenexstirpation cervical rechts. Trotz der gleichen Mutation befand sich der jüngere Bruder zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in einem fortgeschrittenen Stadium des C-Zell-Karzinoms und der Verlauf gestaltete sich bei ihm schwieriger als beim Indexpatienten. Die Diagnose des MEN 2A-Syndroms wurde beim jüngeren Patienten dennoch nicht aufgrund einer Phäochromozytom oder C-Zell-Karzinom typischen Symptomatik, sondern im Rahmen des Familienscreenings gestellt. Noch außergewöhnlicher war jedoch der Verlauf des Vaters des Indexpatienten. Bei der Diagnosestellung eines MEN 2A-Syndroms bei seinen zwei Söhnen war der Vater im Alter von 71 Jahren und berichtete lediglich über eine vorbekannte arterielle Hypertonie, subjektiv war er allerdings beschwerdefrei. Die gesamte Befundkonstellation sprach auch bei ihm für eine MEN 2A-Erkrankung mit dem Vorliegen eines C-Zell-Karzinoms (Calcitonin: 1112 pg/ml, positiver sonographischer Befund und positive Gastrin-Szintigraphie), eines primären Hyperparathyreoidismus (Parathormon: 147 ng/l, Calcium: max. 2,8 mmol/l und positiver sonographischer Befund) sowie mit dem hochgradigen Verdacht auf ein beidseitiges Phäochromozytom in der bildgebenden Diagnostik bei jedoch normwertiger Katecholaminausscheidung. In Anbetracht des fortgeschrittenen Lebensalters, der Symptommfreiheit des Patienten und des subklinischen Phäochromozytoms wurde auf eine operative Behandlung der drei MEN 2A-Manifestationen verzichtet. Unter antihypertensiver Therapie des Phäochromozytoms mit Alpha-Blockade und jährlichen Verlaufskontrollen zeigte sich laborchemisch und

bildmorphologisch ein konstanter und stabiler Befund. Der deutlich unterschiedliche Verlauf der drei verwandten Patienten mit der gleichen C634Y Mutation hebt die variable Expressivität der C634Y Mutation hervor. Der Befund lässt sich sicherlich auch auf andere *RET*-Mutationen generalisieren. Das hat Konsequenzen auf mehrere Ebene und setzt frühzeitige Diagnostikmaßnahmen und strenge Nachsorgestrategien voraus.

Nicht nur die Expressivität einer Mutation, sondern auch ihre Penetranz ist von Bedeutung. Der Indexpatienten mit der Fallnummer 20 sowie sein Vater, sein Onkel und seine Cousine wiesen die Mutation *RET* c. 634 TGC>CGC (p. C634R) auf. Bei allen vier wurde ein C-Zell-Karzinom diagnostiziert, wobei bei der Cousine (Fallnummer 22) eine prophylaktische Thyreoidektomie im Alter von 7 Jahren durchgeführt wurde. Trotz der gleichen Mutation haben hingegen nicht alle vier ein Phäochromozytom entwickelt. Beim Indexpatienten wurde ein beidseitiges Phäochromozytom (rechts im Alter von 25 Jahren und links im Alter von 31 Jahren) festgestellt. Sein Vater (Fallnummer 20*) entwickelte bis zum Alter von 70 Jahren noch kein Phäochromozytom. Sein Onkel (Fallnummer 21) wies im Alter von 40 Jahren ein rechtsseitiges Phäochromozytom auf, jedoch bis zum 69. Lebensjahr keinen Hinweis auf ein zweites bzw. bilaterales Phäochromozytom. Bei der Cousine (Fallnummer 22) zeigte sich im Alter von 26 Jahren zusätzlich zu einem bilateralen Phäochromozytom auch ein interaortocavales Paragangliom. Anhand dieses Beispiels kann man die Schlussfolgerung ziehen, dass die Variabilität der Manifestationen und die Penetranz der Mutationen immer berücksichtigt und im Rahmen von ausführlichen genetischen Beratungen diskutiert werden müssen.

Die gleiche Mutation *RET* c. 634 TGC>CGC (p. C634R) wie bei der Familie des Indexpatienten mit der Fallnummer 20 wurde auch in der Familie des Indexpatienten mit der Fallnummer 23 nachgewiesen. Da die beiden Familien in benachbarten Orten wohnten, wurde unter anderen der Verdacht auf eine Verwandtschaft geäußert. Trotz intensiver Recherche in den Stadtarchiven konnte diesbezüglich kein Nachweis gefunden werden, eine Verwandtschaft ist allerdings nicht auszuschließen. Eine Haplotypanalyse zur näheren Beurteilung war aus organisatorischen Gründen nicht möglich. Dennoch wäre es interessant gewesen zu wissen, wie alt die Mutation überhaupt ist und wie viele Generationen davon betroffen wurden. Einzelne publizierte Berichte haben ausführliche genealogische Untersuchungen großer Familien mit syndromalem Phäochromozytom durchgeführt und über das Alter der verschiedenen Mutationen debattiert. Eine schwedische Arbeit beschrieb eine Familie mit einer *RET* C618S Mutation über sechs Generationen, einer der Betroffenen war im Jahr 1896 geboren [Lindskog *et al.* 2004]. Die

Arbeit von Prof. Dr. Dr. Neumann wies mit Hilfe der modernen molekulargenetischen Analyse nach, dass der erste in der Literatur beschriebene und somit der älteste bekannte Phäochromozytom Fall ein Carrier der *RET*-Mutation C634W war [Neumann *et al.* 2007]. Es handelte sich damals um eine junge Patientin von Deutschland, die im Jahr 1866 geboren war und im Alter von 18 Jahren innerhalb von zehn Tagen in der Universitätsklinik Freiburg starb. Bei ihr wurden bei der Autopsie beidseitige Nebennierentumoren festgestellt. Die damalige vom Felix Fränkel ausführliche Tumor- und Krankheitsbildbeschreibung wies eindeutig auf ein Phäochromozytom auf, wobei der Begriff „Phäochromozytom“ erst später eingesetzt wurde [Fränkel 1866]. Trotz solcher Berichte kann das genaue Alter des syndromalen Phäochromozytoms und der verschiedenen Mutationen sicherlich nicht nachgewiesen werden. Es wird jedoch diskutiert, dass viele aktuell bekannte Keimbahnmutationen durch spontane Mutationen vor Jahrzehnten oder sogar Jahrhunderten aufgetreten sind. Es ist dennoch nicht auszuschließen, dass in der Zukunft weitere *de novo* spontane Mutationen auftreten werden [Machens *et al.* 2008].

Malignität des Phäochromozytoms

Von den 25 Indexpatienten der Marburger Studie wiesen fünf Patienten ein malignes Phäochromozytom auf. Bei zwei davon konnte eine Mutation nachgewiesen werden. Die Patientin mit der Fallnummer 29 war im Alter von 53 Jahren, als ein bereits intraabdominell und ossär metastasiertes malignes Paragangliom DD malignes Phäochromozytom der rechten Nebenniere sowie ein Phäochromozytom der linken Nebenniere festgestellt wurden. Laborchemisch war vor allem die Noradrenalin- und Normetanephrin-Ausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin deutlich erhöht. Aufgrund des ausgeprägten Befundes mit retrocavaler, retrorenaler, interaortocavaler und retrohepatischer Ausbreitung erfolgte eine palliative Tumoresektion und Debulking mit totaler Adrenalektomie rechts und partieller Adrenalektomie links mit anschließend mehrfachen Zyklen Jod-131-MIBG-Therapie. Postoperativ bestand laborchemisch weiterhin eine erhöhte Katecholaminausscheidung. Im Verlauf kam es zur Entwicklung weiterer Metastasen, vor allem diffus in der Wirbelsäule aber auch in der rechten Beckenkammschaukel, sowie pleural im Bereich des Grenzstranges paravertebral links in Höhe BWK 9 und 10. Später wurde ebenfalls eine Raumforderung im Bereich der linken Carotisbifurkation nachgewiesen, verdächtig auf einen Glomustumor DD Metastase. Die arterielle Hypertonie konnte durch eine Mono-Therapie mit Dibenzyran gut eingestellt werden. Bei dieser Patientin konnte eine Mutation im Bereich des *SDHB*-Gens am

Nukleotid 783 C>T (p. R217C) nachgewiesen werden. Der Befund kam allerdings nicht überraschend. In der Literatur ist bereits bekannt, dass vor allem die Träger der *SDHB*-Mutationen ein höheres Risiko für Malignität bzw. für maligne Phäochromozytome und Paragangliome aufweisen [Neumann *et al.* 2004, Gimenez-Roqueplo *et al.* 2003].

Insgesamt eine überraschende Geschichte hatte jedoch die Patientin mit der Fallnummer 30. Bei einem initialen Verdacht auf ein Sarkom beim Nachweis einer ca. 8 cm großen soliden Raumforderung im linken Oberbauch zeigte sich histologisch erstaunlicherweise der Befund eines Paraganglioms. Darüber hinaus wies die 20jährige Patientin nicht nur eine, sondern zwei Missense Varianten im Bereich des *SDHB*-Gens auf, und zwar am Nukleotid 426 T>C (p. C98R) und am Nukleotid 312 A>G (p. T60A). Daraufhin erfolgte im Rahmen der Marburger Studie eine aufwendige Untersuchung von 12 weiteren Angehörigen der Patientin. Von den 12 Angehörigen wiesen der 25-jährige Bruder der Patientin, die 88-jährige Großmutter der Patientin aus väterlicher Seite, der 52-jährige Onkel der Patientin aus väterlicher Seite sowie sein 27-jähriger Sohn und somit Cousin der Patientin die gleiche *SDHB*-Mutation am Nukleotid 426 T>C (p. C98R) auf. Der Vater der Patientin konnte nicht untersucht werden, da er an einem Nierenzellkarzinom im Alter von 41 Jahren verstorben war. Die Mutter hingegen wies die *SDHB*-Mutation am Nukleotid 312 A>G (p. T60A) auf. Sowohl die vier genannten Carrier der Mutation *SDHB* nt. 426 T>C (p. C98R) als auch die Mutter waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung anamnestisch gesund. Lediglich die Großmutter berichtete über eine seit einigen Jahren bestehende arterielle Hypertonie, im Alter von 88 Jahren ließ sie sich aber nicht mehr untersuchen. Die Variante *SDHB* nt. 426 T>C war bereits in der Literatur als pathogen beschrieben, die Variante *SDHB* nt. 312 A>G jedoch nicht. Zur weiteren Abklärung wurde eine SIFT-Analyse, ein Softwareprogramm zur Bewertung von Aminosäuresubstitutionen, durchgeführt. Entsprechend der SIFT-Analyse hat der Austausch der Aminosäure p. T60A mit der Austauschwahrscheinlichkeit von 0,73 (= funktionell nicht signifikant) keinen Einfluss auf die Proteinfunktion. Dementsprechend bleibt der Phänotyp unverändert. Entsprechend der SIFT-Analyse hat der Austausch der Aminosäure p. C98R mit der Austauschwahrscheinlichkeit von 0,00 (= funktionell signifikant) Einfluss auf die Proteinfunktion. Dementsprechend wird der Phänotyp verändert. Insgesamt wurde daraus geschlossen, dass die krankheitsrelevante Mutation die bereits in der Literatur bekannte Variante *SDHB* nt. 426 T>C war, während die Variante *SDHB* nt. 312 A>G schien ein Polymorphismus zu sein. Die Patientin mit der Fallnummer 30 erbte somit die Mutation *SDHB* nt. 426 T>C von ihrem Vater. Das Nierenzellkarzinom, woran der Vater der

Patientin gestorben war, war sehr wahrscheinlich eine klinische Manifestation der *SDHB*-Mutation. In der Literatur wurden bereits einzelne Fälle von Nierenzellkarzinomen im Rahmen eines PGL-4-Syndroms beschrieben [Neumann *et al.* 2004, Gimenez-Roqueplo *et al.* 2003], auch bei Patienten mit negativer Anamnese bezüglich Phäochromozytome oder Paragangliome [Ricketts *et al.* 2008]. Aufgrund der möglichen Begleittumoren sowie des höheren Malignitätsrisikos werden bei Patienten mit einer *SDHB*-Mutation regelmäßige Vorsorgeuntersuchungen mit einschließlich MRT Darstellung vom Hals, Thorax, Abdomen und Becken durchgeführt. Bei der Patientin mit der Fallnummer 30 und ihrem Bruder erbrachte die oben empfohlene Diagnostik keine Auffälligkeiten, beide Patienten müssen allerdings weiterhin regelmäßig auf das Vorliegen von Paragangliomen und Nierenzellkarzinomen untersucht werden. Auch andere seltene Tumoren wie z.B. gastrointestinale Stromatumoren (GIST) [Pasini *et al.* 2008] oder Schilddrüsentumoren müssen berücksichtigt werden. Das Lebenszeitrisiko dieser Erkrankungen scheint allerdings gering zu sein, so dass ein spezielles Screening bei asymptomatischen Patienten wahrscheinlich nicht notwendig ist [Ricketts *et al.* 2010]. Vorsorge- und Nachsorgestrategien zu entwerfen, gestaltete es sich dennoch schwierig, vor allem wenn anhand der aktuellen Datenlage keine eindeutigen Genotyp-Phänotyp-Korrelationen aufgrund der Vielfältigkeit der *SDHB*-Mutationen erfasst werden konnten [Ricketts *et al.* 2010]. Auch die Penetranz der einzelnen *SDHB*-Mutationen bleibt unklar, wobei die aktuellen Daten für eine inkomplette Penetranz sprechen [Fuentes *et al.* 2006].

Bei der Patientin mit der Fallnummer 15 wurde histologisch ein ca. 12 cm großes malignes Phäochromozytom der linken Nebenniere mit Nachweis von Lymphspalteneinbrüchen und einer Lymphknotenmetastase festgestellt. Postoperativ sowie im Verlauf konnten keine Zeichen eines Lokalrezidivs oder einer Fernmetastasierung des malignen Phäochromozytoms nachgewiesen werden. Bei der Patientin mit der Fallnummer 16 wurde hingegen das 5 cm große linkseitige Phäochromozytom zunächst als benigne eingestuft. Erst beim nach 3 Jahren aufgetretenen Lokalrezidiv wurde die Diagnose eines malignen Phäochromozytoms gestellt. Wegen weiterer Rezidive wurde die Patientin im Verlauf mehrfach operiert mit einschließlich Tumorexstirpationen, Lymphknotendissektion, Nephrektomie links, Splenektomie, Pankreasschwanz- und Zwerchfellteilresektion. Anschließend zeigte sich histologisch bei der Patientin eine Peritonealmetastasierung, bei fehlendem Nachweis von großen Tumoren wurde auf eine weitere operative Intervention verzichtet. Gleichzeitig erfolgten bei der Patientin mehrere Zyklen Jod-131-MIBG-Therapie und Chemotherapie mit Dacarbazin, Vincristin und Cyclophosphamid. Die

molekulargenetische Untersuchung erbrachte allerdings bei beiden Patientinnen (Fallnummer 15 und 16) keine typische Mutation trotz mehrfacher Analysen. Dieser Befund weist darauf hin, dass nicht bei allen malignen Phäochromozytomen eine Mutation nachgewiesen wird, auch wenn die Malignität ein Indikator für das Vorliegen einer genetischen Erkrankung sein könnte. In der Studie von Amar *et al.* wiesen 52 Patienten von den insgesamt 258 erfassten Patienten ein malignes Phäochromozytom oder Paragangliom auf, bei lediglich 18 Patienten davon konnte eine Mutation identifiziert werden, und bei 15 Patienten davon lag die Mutation im Bereich des *SDHB*-Gens [Amar *et al.* 2005].

Maligne Phäochromozytome wurden allerdings auch im Rahmen anderer genetischen Syndrome festgestellt. Laut Fitzgerald *et al.* wurden lokale oder Fernmetastasen bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei 4%, 8% bzw. 12% der Patienten mit MEN 2A-, VHL- bzw. NF1-Syndrom nachgewiesen [Fitzgerald *et al.* 2006]. Der Patient mit der Fallnummer 25 wies zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Jahr 1997 ein ca. 4 cm großes Phäochromozytom der linken Nebenniere auf. Bei laborchemischem und bildgebendem auffälligem Befund wurde der Patient im Jahr 2001 auch rechtsseitig operiert, histologisch zeigte sich allerdings lediglich eine diskrete Hyperplasie des Nebennierenmarkes. Darüber hinaus wurde im Jahr 2008 ein ca. 1 cm großes Paragangliom im Bereich des rechten Grenzstrangs operiert. Der Nachweis eines im Jahr 2009 laborchemisch und bildgebend festgestellten Lokalrezidivs im Bereich des linken Nierenhilus wies auf ein malignes Geschehen des linksseitigen Phäochromozytoms hin, auch wenn diese Diagnose erst 12 Jahre nach der ersten Operation gestellt werden konnte. Die molekulargenetische Untersuchung erbrachte bei diesem Patienten den Nachweis einer *RET*-Mutation auf dem Codon 790 (TTG>TTT, p. L790F). In der Literatur werden die *RET*-Mutationen auf dem Codon 790 mit einem milden Verlauf des C-Zell-Karzinoms korreliert. Auch der Patient mit der Fallnummer 25 wies nach der prophylaktischen Thyreoidektomie mit zentraler Neck-Dissektion im Verlauf kein Rezidiv des C-Zell-Karzinoms auf. Wenige Daten sind allerdings über die Phäochromozytome bei *RET*-Mutationen des Codons 790 bekannt.

In der Literatur wurden bestimmte Prädiktoren der Malignität wie z.B. Tumorgewicht von mehr als 80 g, erhöhte Dopamin-Konzentration im Tumor [John *et al.* 1999], Vorliegen von konfluierender Tumornekrose, extraadrenale Manifestation oder jüngeres Alter [Lehnert 2004] diskutiert. Auch eine Tumorgöße von mehr als 5 cm scheint verdächtig auf ein malignes Phäochromozytom zu sein [Goldstein *et al.* 1999]. Von den in der Marburger Studie erfassten 30 Patienten wiesen drei von fünf Patienten mit einem malignen

Phäochromozytom oder Paragangliom eine Tumorgöße von ≥ 5 cm (5, 10, bzw. 12 cm) auf. Die restlichen 25 Patienten mit benignen Phäochromozytomen oder Paragangliomen hatten zum Zeitpunkt der Diagnose eine Tumorgöße von min. 1,5 cm bis max. 10 cm. Bei 13 Patienten davon betrug die Tumorgöße ≥ 5 cm, während bei 12 Patienten die Tumorgöße unter 5 cm lag. Trotz des kleinen Patientenkollektives kann man aus der Marburger Studie die Schlussfolgerung ziehen, dass eine Tumorgöße von ≥ 5 cm weder ein sensitiver noch ein spezifischer Prädiktor für das Vorliegen eines malignen Phäochromozytoms oder Paraganglioms ist.

Ungewöhnliche Phänotypen

Einen der ungewöhnlichsten Phänotypen wies in der Marburger Studie der Patient mit der Fallnummer 11 auf. Bei ihm wurde ein ca. 6 cm großes ACTH-produzierendes Phäochromozytom festgestellt. Die bildgebenden Untersuchungen (CT, MIBG-Szintigraphie) erbrachten das typische Bild eines Phäochromozytoms, laborchemisch zeigte sich eine deutliche Erhöhung der Katecholamine (Adrenalin, Metanephrin, Noradrenalin sowie Normetanephrin) im 24-Stunden-Sammelurin. Darüber hinaus fiel auch eine fehlende Suppression der Cortisols im Dexamethason-Kurztest (mit 2 mg Dexamethason) sowie im hochdosierten Dexamethason-Kurztest (mit 8 mg Dexamethason) auf, vereinbar somit mit einem ACTH-produzierenden Phäochromozytom. Die histologische Untersuchung erbrachte in der Tat den Befund eines zentral regressiv veränderten Phäochromozytoms mit fokaler geringer Expression von ACTH. Postoperativ zeigte sich kein Hinweis mehr auf das Vorliegen bzw. Fortbestehen der übermäßigen ACTH-Produktion.

Laut einzelnen Berichten in der Literatur können Phäochromozytome zusätzlich zu den Katecholaminen tatsächlich auch andere Hormone produzieren, unter anderen Somatostatin, Vasoaktives Intestinales Peptid (VIP), Calcitonin [Viale *et al.* 1985, Trump *et al.* 1977, George *et al.* 2010] sowie Parathormon [Kukreja *et al.* 1973, Shanberg *et al.* 1985] und ACTH [Spark *et al.* 1979, Forman *et al.* 1979]. ACTH-produzierende Phäochromozytomen sind insgesamt selten, lediglich einzelne Fälle wurden berichtet. Die meisten Patienten werden allerdings durch die Cushing-typischen Symptome auffällig, und seltener durch das Phäochromozytom bei fehlendem klinischem Bild eines Cushing Syndroms [Sato *et al.* 1998]. Bei einzelnen Patienten mit einem ACTH-produzierenden Phäochromozytom konnten verschiedene Mutationen nachgewiesen werden, und interessanterweise lag bei einigen Patienten eine doppelte Mutation vor. Die Arbeit von

Nunes *et al.* berichtet über einen Fall mit einem ACTH-produzierenden Phäochromozytom mit gleichzeitigem Nachweis von zwei *RET*-Mutationen, C634R und V648I [Nunes *et al.* 2002]. Beim Patienten mit der Fallnummer 11 konnte allerdings keine Mutation nachgewiesen werden.

Doppelt auftretende Mutationen, vor allem bei MEN 2B oder milden Fälle von FMTC, wurden über die letzten Jahren gelegentlich berichtet [Menko *et al.* 2002, Miyauchi *et al.* 1999, Bartsch *et al.* 2000]. Die Arbeit von Tessitore *et al.* beschrieb den ersten Fall in der Literatur mit einem Calcitonin-produzierenden Phäochromozytom im Rahmen eines MEN 2A-Syndroms. Die Patientin wies eine C634R und eine A640G Mutation im Exon 11 des *RET*-Gens auf [Tessitore *et al.* 1999]. Darüber hinaus wurde über eine hohe Penetranz der Phäochromozytome bei einer weiteren doppelten Mutation des *RET*-Gens im Sinne von C634Y und Y791F Mutationen in der Arbeit von Toledo *et al.* von 2010 berichtet. In allen Fällen wurde es intensiv diskutiert, ob es sich jedoch bei der zweiten Mutation nicht um einen Polymorphismus handelt. Der fehlende Nachweis einer V648I Mutation im Bereich des *RET*-Gens in 200 Allelen von 100 gesunden erwachsenen Probanden könnte darauf hindeuten, dass die V648I Mutation kein Polymorphismus ist und sich in der Arbeit von Nunes *et al.* von 2002 in der Tat um eine relevante doppelte Mutation handelt. Ein selten auftretender Polymorphismus kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Mittlerweile wurde bereits eine Reihe von Varianten als Polymorphismen interpretiert. Anhand der Arbeit von Erlic *et al.* von 2010 scheint einschließlich die initial als pathogen eingestufte *RET*-Variante Y791F ein Polymorphismus zu sein. Das spricht dann dafür, dass die in der Arbeit von Toledo *et al.* beschriebene doppelte Mutation doch nicht relevant ist.

Schlusswort

Zusammengefasst bleibt das Thema der molekulargenetischen Untersuchung bei Patienten mit Phäochromozytomen und Paragangliomen sehr umfangreich, vor allem weil sie sowohl spontan als auch im Rahmen verschiedener hereditärer Syndrome auftreten können. Das klinische Bild der möglichen syndromalen Manifestationen ist genauso komplex und variabel wie das Spektrum der zugrunde liegenden Mutationen. Weitere klinische und molekulargenetische Untersuchungen bei Patienten mit Phäochromozytomen oder Paragangliomen könnten in der Zukunft ein besseres Verständnis der Genotyp-Phänotyp-Korrelationen ermöglichen, um die neu erworbenen Kenntnisse effizienter in die Praxis umsetzen zu können.

5 Zusammenfassung / Abstract

Zusammenfassung

Phäochromozytome können sporadisch oder im Rahmen von hereditären Syndromen mit Mutationen verschiedener Gene vorkommen. Solche Mutationen wurden auf dem *RET*-Gen für das MEN 2-Syndrom, auf dem *VHL*-Gen für das VHL-Syndrom, auf dem *NF1*-Gen für das NF1-Syndrom, sowie im Bereich des *SDHB*-, *SDHC*- und *SDHD*-Gens, und neuerlich auch im Bereich des *SDHAF2*- und *TMEM127*-Gens für das PG-1 bis -4 Syndrom identifiziert. Das Ziel dieser Arbeit war ein repräsentatives Marburger Patientengut mit Phäochromozytomen und extraadrenalen Paragangliomen zusammenzustellen und mit den verfügbaren molekulargenetischen Methoden zu charakterisieren. Es wurden vor allem das *RET*-Gen mit den Exons 10, 11, 13-16 sowie die Gene *VHL*, *SDHB* und *SDHD* mit allen Exons untersucht.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Fälle von insgesamt 30 Patienten mit Phäochromozytomen und/oder extraadrenalen Paragangliomen mit ihrem klinischen und molekulargenetischen Befund ausführlich dargestellt. Dieser Vorgang hat eine vielschichtige Genotyp-Phänotyp-Analyse der betroffenen Patienten möglich gemacht. Unter anderen wurde das Spektrum hinsichtlich Alter, Geschlecht, Produktion von Katecholaminen, Lokalisation, Zahl und Dignität der Tumoren analysiert, aber auch die Penetranz und die Expressivität der Mutationen und die Variabilität der klinischen Manifestationen bei den verschiedenen Syndromen. Es wurde einschließlich über die Indikation für eine genetische Untersuchung bei Patienten mit Phäochromozytom oder Paragangliom und bei ihren Angehörigen sowie über effektive Screening-Algorithmen diskutiert. Von Bedeutung ist auch die Genotyp-Phänotyp-Analyse hinsichtlich der Dignität der Tumoren. Sowohl benigne als auch maligne Phäochromozytomen und Paragangliome im Rahmen von Syndromen wurden in der Arbeit berichtet. Die Träger einer *SDHB*-Mutation verdienen aufgrund des höheren Risikos für Malignität eine besondere Aufmerksamkeit. Zu erwähnen sind auch die ungewöhnlichen Phänotypen, zum Beispiel im Sinne von ACTH-produzierenden Phäochromozytomen, die noch weitere Fragen bezüglich der Tumorphogenese der Phäochromozytome und Paragangliome aufwerfen. Die Relevanz der molekulargenetischen Untersuchung für die Patienten mit Phäochromozytomen oder Paragangliomen und ihre Angehörigen bleibt unbestreitbar. Das MEN 2-Syndrom gehört zu den wenigen erblichen Krebserkrankungen, bei dem eine

frühzeitige prophylaktische Operation im Sinne einer totalen Thyreoidektomie eine sichere kurative Therapie des C-Zell-Karzinoms bei jungen Mutationsträger möglich macht. Bei den mutationsfreien Angehörigen verzichtet man dann auf die regelmäßige kostenpflichtige laborchemische und bildgebende Diagnostik.

Zusammengefasst scheint das klinische Bild der möglichen syndromalen Manifestationen genauso komplex und variabel wie das Spektrum der zugrunde liegenden Mutationen zu sein. Anhand der erfassten Daten dieser Arbeit könnten jedoch effiziente molekulargenetische Untersuchungen von Patienten mit Phäochromozytomen und Paragangliomen sowie eine Optimierung der klinischen Betreuung und Diagnostik der Betroffenen im Rahmen von Vorsorge- und Nachsorgeuntersuchungen ermöglicht werden.

Abstract

Pheochromocytoma can occur sporadically or as part of a familial syndrome with specific mutations. Such mutations have been identified in the *RET*-gene for the MEN 2-syndrome, in the *VHL*-gene for the VHL-syndrome, in the *NF1*-gene for the NF1-syndrome, as well as in the *SDHB*-, *SDHC*- and *SDHD*-genes and newly in the *SDHAF2*- and *TMEM127*-genes for the hereditary paraganglioma syndromes 1 to 4. The purpose of this dissertation was to assemble and characterise a representative patient population with pheochromocytoma or paraganglioma from Marburg using the available molecular genetic methods. The analysis consisted in testing especially for the *RET*-gene with its exons 10, 11, 13-16, as well as for the *VHL*-, *SDHB*- and *SDHD*-genes with all their exons.

In this dissertation was described in detail a total of 30 patients with pheochromocytoma and/or paraganglioma with their clinical and molecular genetic results. This way it was possible to make a complex genotype-phenotype-analysis of the patients. The whole spectrum of age, gender, production of catecholamines, localisation, number and dignity of the tumours was analysed, as well as the penetrance and the expressivity of the mutations and the variability of the clinical manifestations of the different syndromes. It was also discussed about the indication for a genetic testing of patients with pheochromocytoma and paraganglioma and of their family members, as well as about effective screening algorithms. Of importance is also the genotype-phenotype-analysis regarding the dignity of the tumours. Both benign and malignant hereditary pheochromocytomas and paragangliomas were reported in this dissertation. The carriers of *SDHB*-mutations deserve a closer attention because of their higher risk for malignancy. Mentionable are also the special

phenotypes, as those of the ACTH-producing pheochromocytomas, which raise more questions about the tumour pathogenesis of pheochromocytoma and paraganglioma. The importance of the genetic testing of patients with pheochromocytoma or paraganglioma and their family members remains indisputable. The MEN 2-syndrome is among the few hereditary cancer diseases which profit from an early prophylactic operation, in terms of a total thyroidectomy as a curative therapy of the medullary thyroid cancer in young carriers of the specific mutations. The family members without such mutations do not need any regular expensive laboratory and imaging investigations.

To sum up, the clinical picture of the various syndrome manifestations of the patients with pheochromocytoma and paraganglioma appears to be as complex and variable as the spectrum of the underlying mutations. However, based on the acquired data from this dissertation, a more efficient molecular genetic testing and optimised patient clinical care, in terms of screening and follow-up examinations, could be achieved.

6 Verzeichnis der Abkürzungen

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
BWK	Brustwirbelkörper
c.	Codon
CT	Computertomographie
DD	Differentialdiagnose
d.h.	das heißt
DHPLC	Denaturing High Performance Liquid Chromatography
DNA	Desoxyribonuclein Acid (Säure)
DOPA-PET	Didydroxaphenylalanin-Positronenemissionstomographie
DOTA	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-Tetraessigsäure
DOTATOC	DOTA-Phe1-Tyr3-Octreotid (DOTA-Tyrosin-Konjugat mit Octreotid)
EDTA	Ethylendiamin-Tetraessigsäure
EHD	Erythemwirksame-Halbstunden-Dosis
ERCP	Endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie
FDG-PET	Fluorodeoxyglukose-Positronenemissionstomographie
FMTC	Familial medullary thyroid carcinoma
GAP	GTPase-activatin protein
GDP	Guanosindiphosphat
GHD	Gesamtherddosis
GIST	Gastrointestinale Stromatumoren
GTP	Guanosintriphosphat
HIF-1	Hypoxie-induzierter Faktor-1
HSP90	Heat shock protein 90
IGF	Insulin-like growth factor
KM	Kontrastmittel
KOF	Körperoberfläche
LWS	Lendenwirbelsäule
MAO	Monoaminoxidase
MEN 2	Multiple Endokrine Neoplasie Typ 2
MIBG	Metaiodobenzylguanid
MLPA	Multiplex-Ligation-dependent Probe Amplification
mRNA	Messenger RNA
MRT	Magnetresonanztomographie

MTC	Medullary thyroid carcinoma (medulläres Schilddrüsenkarzinom)
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin (Ziel des Rapamycins im Säugetier)
NF1	Neurofibromatose Typ 1
nt.	Nukleotid
p	Kurzer Chromosomenarm
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PDGF-R	Platelet-derived growth factor receptor
PGL	Parangangliom
q	Langer Chromosomenarm
RET	Rearranged during transfection
RNA	Ribonucleid Acid (Säure)
SDH	Succinatdehydrogenase
SIFT	Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT-Analyse)
SMS	Somatostatin
SSCP	Single-Stranded-Conformation-Polymorphism
SST	Somatostatin
Taq	Thermus aquaticus
TGF	Transforming growth factor
TH	Tyrosinhydroxylase
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VHL	Von-Hippel-Lindau
VIP	Vasoaktives Intestinales Peptid
VMA	Vanillylmandelic acid
vs.	Versus
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
Z.n.	Zustand nach
z.B.	Zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem

7 Anhang

Tabelle 7.1: Sequenzierung von Exons 11 des *RET*-Gens (AS = Aminosäure)

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
1879	G	627	D		1945	T	649	S
1880	A				1946	C		
1881	T				1947	G		
1882	C	628	P		1948	G	650	V
1883	C				1949	T		
1884	A				1950	G		
1885	C	629	L		1951	C	651	L
1886	T				1952	T		
1887	G				1953	G		
1888	T	630	C		1954	C	652	L
1889	G				1955	T		
1890	C				1956	G		
1891	G	631	D		1957	T	653	S
1892	A				1958	C		
1893	C				1959	T		
1894	G	632	E		1960	G	654	A
1895	A				1961	C		
1896	G				1962	C		
1897	C	633	L		1963	T	655	F
1898	T				1964	T		
1899	G				1965	C		
1900	T	634	C		1966	T	656	C
1901	G				1967	G		
1902	C				1968	C		
1903	C	635	R		1969	A	657	I
1904	G				1970	T		
1905	C				1971	C		
1906	A	636	T		1972	C	658	H
1907	C				1973	A		
1908	G				1974	C		
1909	G	637	V		1975	T	659	C
1910	T				1976	G		
1911	G				1977	C		
1912	A	638	I		1978	T	660	Y
1913	T				1979	A		
1914	C				1980	C		
1915	G	639	A		1981	C	661	H
1916	C				1982	A		
1917	A				1983	C		
1918	G	640	A		1984	A	662	K
1919	C				1985	A		
1920	C				1986	G		
1921	G	641	A		1987	T	663	F
1922	C				1988	T		
1923	T				1989	T		
1924	G	642	V		1990	G	664	A
1925	T				1991	C		
1926	C				1992	C		
1927	C	643	L		1993	C	665	H
1928	T				1994	A		
1929	C				1995	C		
1930	T	644	F		1996	A	666	K
1931	T				1997	A		
1932	C				1998	G		
1933	T	645	S		1999	C	667	P
1934	C				2000	C		
1935	C				2001	A		
1936	T	646	F		2002	C	668	P
1937	T				2003	C		
1938	C				2004	C		
1939	A	647	I		2005	A	669	I
1940	T				2006	T		
1941	C				2007	C		
1942	G	648	V		2008	T	670	S
1943	T				2009	C		
1944	C				2010	C		

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
2011	T	671	S		2074	G	692	A
2012	C				2075	C		
2013	A				2076	C		
2014	G	672	A		2077	C	693	R
2015	C				2078	G		
2016	T				2079	C		
2017	G	673	E		2080	C	694	R
2018	A				2081	G		
2019	G				2082	G		
2020	A	674	M		2083	C	695	P
2021	T				2084	C		
2022	G				2085	C		
2023	A	675	T		2086	T	696	S
2024	C				2087	C		
2025	C				2088	G		
2026	T	676	F		2089	C	697	L
2027	T				2090	T		
2028	C				2091	G		
2029	C	677	R		2092	G	698	D
2030	G				2093	A		
2031	G				2094	C		
2032	A	678	R		2095	T	699	S
2033	G				2096	C		
2034	G				2097	C		
2035	C	679	P		2098	A	700	M
2036	C				2099	T		
2037	C				2100	G		
2038	G	680	A		2101	G	701	E
2039	C				2102	A		
2040	C				2103	G		
2041	C	681	Q		2104	A	702	N
2042	A				2105	A		
2043	G				2106	C		
2044	G	682	A		2107	C	703	Q
2045	C				2108	A		
2046	C				2109	G		
2047	T	683	F		2110	G	704	V
2048	T				2111	T		
2049	C				2112	C		
2050	C	684	P		2113	T	705	S
2051	C				2114	C		
2052	G				2115	C		
2053	G	685	V		2116	G	706	V
2054	T				2117	T		
2055	C				2118	G		
2056	A	686	S		2119	G	707	D
2057	G				2120	A		
2058	C				2121	T		
2059	T	687	Y		2122	G	708	A
2060	A				2123	C		
2061	C				2124	C		
2062	T	688	S		2125	T	709	F
2063	C				2126	T		
2064	C				2127	C		
2065	T	689	S		2128	A	710	K
2066	C				2129	A		
2067	T				2130	G		
2068	T	690	S		2131	A	711	I
2069	C				2132	T		
2070	C				2133	C		
2071	G	691	G		2134	C	712	L
2072	G				2135	T		
2073	T				2136	G		

Tabelle 7.2: Sequenzierung von Exon 13 des *RET*-Gens (AS = Aminosäure)

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
2284	G	762	E		2338	A	780	K
2285	A				2339	A		
2286	G				2340	G		
2287	A	763	N		2341	C	781	Q
2288	A				2342	A		
2289	C				2343	G		
2290	G	764	A		2344	G	782	V
2291	C				2345	T		
2292	C				2346	C		
2293	T	765	S		2347	A	783	N
2294	C				2348	A		
2295	C				2349	C		
2296	C	766	P		2350	C	784	H
2297	C				2351	A		
2298	G				2352	C		
2299	A	767	S		2353	C	785	P
2300	G				2354	C		
2301	T				2355	A		
2302	G	768	E		2356	C	786	H
2303	A				2357	A		
2304	G				2358	T		
2305	C	769	L		2359	G	787	V
2306	T				2360	T		
2307	T				2361	C		
2308	C	770	R		2362	A	788	I
2309	G				2363	T		
2310	A				2364	C		
2311	G	771	D		2365	A	789	K
2312	A				2366	A		
2313	C				2367	A		
2314	C	772	L		2368	T	790	L
2315	T				2369	T		
2316	G				2370	G		
2317	C	773	L		2371	T	791	Y
2318	T				2372	A		
2319	G				2373	T		
2320	T	774	S		2374	G	792	G
2321	C				2375	G		
2322	A				2376	G		
2323	G	775	E		2377	G	793	A
2324	A				2378	C		
2325	G				2379	C		
2326	T	776	F		2380	T	794	C
2327	T				2381	G		
2328	C				2382	C		
2329	A	777	N		2383	A	795	S
2330	A				2384	G		
2331	C				2385	C		
2332	G	778	V		2386	C	796	Q
2333	T				2387	A		
2334	C				2388	G		
2335	C	779	L		2389	G	797	D
2336	T				2390	A		
2337	G				2391	T		

Tabelle 7.3: Sequenzierung von Exon 1 des *VHL*-Gens (AS = Aminösäure)

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
214	A	1	M		286	C	25	P
215	T				287	C		
216	G				288	T		
217	C	2	P		289	G	26	E
218	C				290	A		
219	C				291	A		
220	C	3	R		292	G	27	E
221	G				293	A		
222	G				294	A		
223	A	4	R		295	G	28	D
224	G				296	A		
225	G				297	C		
226	G	5	A		298	G	29	G
227	C				299	G		
228	G				300	C		
229	G	6	E		301	G	30	G
230	A				302	G		
231	G				303	G		
232	A	7	N		304	G	31	E
233	A				305	A		
234	C				306	G		
235	T	8	W		307	G	32	E
236	G				308	A		
237	G				309	G		
238	G	9	D		310	T	33	S
239	A				311	C		
240	C				312	G		
241	G	10	E		313	G	34	G
242	A				314	G		
243	G				315	C		
244	G	11	A		316	G	35	A
245	C				317	C		
246	C				318	C		
247	G	12	E		319	G	36	E
248	A				320	A		
249	G				321	G		
250	G	13	V		322	G	37	E
251	T				323	A		
252	A				324	G		
253	G	14	G		325	T	38	S
254	G				326	C		
255	C				327	C		
256	G	15	A		328	G	39	G
257	C				329	G		
258	G				330	C		
259	G	16	E		331	C	40	P
260	A				332	C		
261	G				333	G		
262	G	17	E		334	G	41	E
263	A				335	A		
264	G				336	A		
265	G	18	A		337	G	42	E
266	C				338	A		
267	A				339	G		
268	G	19	G		340	T	43	S
269	G				341	C		
270	C				342	C		
271	G	20	V		343	G	44	G
272	T				344	G		
273	C				345	C		
274	G	21	E		346	C	45	P
275	A				347	C		
276	A				348	G		
277	G	22	E		349	G	46	E
278	A				350	A		
279	G				351	G		
280	T	23	Y		352	G	47	E
281	A				353	A		
282	C				354	A		
283	G	24	G		355	C	48	L
284	G				356	T		
285	C				357	G		

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
358	G	49	G		433	G	74	V
359	G				434	T		
360	C				435	C		
361	G	50	A		436	A	75	I
362	C				437	T		
363	C				438	C		
364	G	51	E		439	T	76	F
365	A				440	T		
366	G				441	C		
367	G	52	E		442	T	77	C
368	A				443	G		
369	G				444	C		
370	G	53	E		445	A	78	N
371	A				446	A		
372	G				447	T		
373	A	54	M		448	C	79	R
374	T				449	G		
375	G				450	C		
376	G	55	E		451	A	80	S
377	A				452	G		
378	G				453	T		
379	G	56	A		454	C	81	P
380	C				455	C		
381	C				456	G		
382	G	57	G		457	C	82	R
383	G				458	G		
384	G				459	C		
385	C	58	R		460	G	83	V
386	G				461	T		
387	G				462	C		
388	C	59	P		463	G	84	V
389	C				464	T		
390	G				465	G		
391	C	60	R		466	C	85	L
392	G				467	T		
393	G				468	G		
394	C	61	P		469	C	86	P
395	C				470	C		
396	C				471	C		
397	G	62	V		472	G	87	V
398	T				473	T		
399	G				474	A		
400	C	63	L		475	T	88	W
401	T				476	G		
402	G				477	G		
403	C	64	R		478	C	89	L
404	G				479	T		
405	C				480	C		
406	T	65	S		481	A	90	N
407	C				482	A		
408	G				483	C		
409	G	66	V		484	T	91	F
410	T				485	T		
411	G				486	C		
412	A	67	N		487	G	92	D
413	A				488	A		
414	C				489	C		
415	T	68	S		490	G	93	G
416	C				491	G		
417	G				492	C		
418	C	69	R		493	G	94	E
419	G				494	A		
420	C				495	G		
421	G	70	E		496	C	95	P
422	A				497	C		
423	G				498	G		
424	C	71	P		499	C	96	Q
425	C				500	A		
426	C				501	G		
427	T	72	S		502	C	97	P
428	C				503	C		
429	C				504	C		
430	C	73	Q		505	T	98	Y
431	A				506	A		
432	G				507	C		

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
508	C	99	P		532	C	107	R
509	C				533	G		
510	A				534	C		
511	A	100	T		535	C	108	R
512	C				536	G		
513	G				537	C		
514	C	101	L		538	A	109	I
515	T				539	T		
516	G				540	C		
517	C	102	P		541	C	110	H
518	C				542	A		
519	G				543	C		
520	C	103	P		544	A	111	S
521	C				545	G		
522	T				546	C		
523	G	104	G		547	T	112	Y
524	G				548	A		
525	C				549	C		
526	A	105	T		550	C	113	R
527	C				551	G		
528	G				552	A		
529	G	106	G		553	G	114	G
530	G				554	G		
531	C				555	T		

Tabelle 7.4: Sequenzierung des Exons 4 des *SDHB*-Gens (AS = Aminosäure)

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
420	G	96	G		489	A	119	T
421	G				490	C		
422	C				491	C		
423	A	97	I		492	A	120	N
424	T				493	A		
425	C				494	C		
426	T	98	C		495	C	121	L
427	G				496	T		
428	T				497	C		
429	G	99	G		498	A	122	N
430	G				499	A		
431	C				500	T		
432	T	100	S		501	A	123	K
433	C				502	A		
434	T				503	G		
435	T	101	C		504	G	124	V
436	G				505	T		
437	T				506	C		
438	G	102	A		507	T	125	S
439	C				508	C		
440	A				509	A		
441	A	103	M		510	A	126	K
442	T				511	A		
443	G				512	A		
444	A	104	N		513	A	127	I
445	A				514	T		
446	C				515	C		
447	A	105	I		516	T	128	Y
448	T				517	A		
449	C				518	C		
450	A	106	N		519	C	129	P
451	A				520	C		
452	T				521	T		
453	G	107	G		522	C	130	L
454	G				523	T		
455	A				524	T		
456	G	108	G		525	C	131	P
457	G				526	C		
458	C				527	A		
459	A	109	N		528	C	132	H
460	A				529	A		
461	C				530	C		
462	A	110	T		531	A	133	M
463	C				532	T		
464	T				533	G		
465	C	111	L		534	T	134	Y
466	T				535	A		
467	A				536	T		
468	G	112	A		537	G	135	V
469	C				538	T		
470	T				539	G		
471	T	113	C		540	A	136	I
472	G				541	T		
473	C				542	A		
474	A	114	T		543	A	137	K
475	C				544	A		
476	C				545	G		
477	C	115	R		546	G	138	D
478	G				547	A		
479	A				548	T		
480	A	116	R		549	C	139	L
481	G				550	T		
482	G				551	T		
483	A	117	I		552	G	140	V
484	T				553	T		
485	T				554	T		
486	G	118	D		555	C	141	P
487	A				556	C		
488	C				557	C		

Tabelle 7.5: Sequenzierung von Exon 7 des *SDHB*-Gens (AS = Aminosäure)

Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS		Nukleotid Nr.	Nukleotid	Codon	AS
777	G	215	A		840	G	236	D
778	C				841	A		
779	C				842	C		
780	T	216	Y		843	C	237	P
781	A				844	C		
782	T				845	A		
783	C	217	R		846	T	238	F
784	G				847	T		
785	C				848	C		
786	T	218	W		849	T	239	S
787	G				850	C		
788	G				851	T		
789	A	219	M		852	C	240	L
790	T				853	T		
791	G				854	A		
792	A	220	I		855	T	241	Y
793	T				856	A		
794	T				857	C		
795	G	221	D		858	C	242	R
796	A				859	G		
797	C				860	C		
798	T	222	S		861	T	243	C
799	C				862	G		
800	C				863	C		
801	A	223	R		864	C	244	H
802	G				865	A		
803	A				866	C		
804	G	224	D		867	A	245	T
805	A				868	C		
806	T				869	C		
807	G	225	D		870	A	246	I
808	A				871	T		
809	C				872	C		
810	T	226	F		873	A	247	M
811	T				874	T		
812	C				875	G		
813	A	227	T		876	A	248	N
814	C				877	A		
815	A				878	C		
816	G	228	E		879	T	249	C
817	A				880	G		
818	G				881	C		
819	G	229	E		882	A	250	T
820	A				883	C		
821	G				884	A		
822	C	230	R		885	A	251	R
823	G				886	G		
824	C				887	G		
825	C	231	L		888	A	252	T
826	T				889	C		
827	G				890	C		
828	G	232	A		891	T	253	C
829	C				892	G		
830	C				893	T		
831	A	233	K		894	C	254	P
832	A				895	C		
833	G				896	T		
834	C	234	L		897	A	255	K
835	T				898	A		
836	G				899	G		
837	C	235	Q					
838	A							
839	G							

Tabelle 7.6: Abkürzung für die einzelnen Nukleotiden

A	Adenin
C	Cytosin
G	Guanin
T	Thymin (nur in DNA)
U	Uridil (nur in RNA)

Tabelle 7.7: Aus NCBI „The Standard Code“. Die ersten drei Großbuchstaben stehen für das jeweilige Basentriplett, die Buchstaben danach für die Aminosäureabkürzung, die Bezeichnung der Aminosäure in Kurzschreibform bzw. für die komplette Bezeichnung der Aminosäure.
„*“ bezeichnet Start-Codons

TTT	F	Phe	Phenylalanin	TCT	S	Ser	Serin	TAT	Y	Tyr	Tyrosin	TGT	C	Cys	Cystein
TTC	F	Phe	Phenylalanin	TCC	S	Ser	Serin	TAC	Y	Tyr	Tyrosin	TGC	C	Cys	Cystein
TTA	L	Leu	Leucin	TCA	S	Ser	Serin	TAA			Stop	TGA			Stop
TTG	L	Leu	Leucin*	TCG	S	Ser	Serin	TAG			Stop	TGG	W	Trp	Tryptophan
CTT	L	Leu	Leucin	CCT	P	Pro	Prolin	CAT	H	His	Histidin	CGT	R	Arg	Arginin
CTC	L	Leu	Leucin	CCC	P	Pro	Prolin	CAC	H	His	Histidin	CGC	R	Arg	Arginin
CTA	L	Leu	Leucin	CCA	P	Pro	Prolin	CAA	Q	Gln	Glutamin	CGA	R	Arg	Arginin
CTG	L	Leu	Leucin*	CCG	P	Pro	Prolin	CAG	Q	Gln	Glutamin	CGG	R	Arg	Arginin
ATT	I	Ile	Isoleucin	ACT	T	Thr	Threonin	AAT	N	Asp	Asparagin	AGT	S	Ser	Serin
ATC	I	Ile	Isoleucin	ACC	T	Thr	Threonin	AAC	N	Asp	Asparagin	AGC	S	Ser	Serin
ATA	I	Ile	Isoleucin	ACA	T	Thr	Threonin	AAA	K	Lys	Lysin	AGA	R	Arg	Arginin
ATG	M	Met	Methionin*	ACG	T	Thr	Threonin	AAG	K	Lys	Lysin	AGG	R	Arg	Arginin
GTT	V	Val	Valin	GCT	A	Ala	Alanin	GAT	D	Asp	Asparaginsäure	GGT	G	Gly	Glycin
GTC	V	Val	Valin	GCC	A	Ala	Alanin	GAC	D	Asp	Asparaginsäure	GGC	G	Gly	Glycin
GTA	V	Val	Valin	GCA	A	Ala	Alanin	GAA	E	Glu	Glutaminsäure	GGA	G	Gly	Glycin
GTG	V	Val	Valin	GCG	A	Ala	Alanin	GAG	E	Glu	Glutaminsäure	GGG	G	Gly	Glycin

8 Literaturverzeichnis

- Adler JT, Meyer-Rochow GY, Chen H, Benn DE, Robinson BG, Sippel RS, Sidhu SB: Pheochromocytoma: Current approaches and future directions, *Oncologist*. 2008, 13: 779-793.
- Afuwape O, Ladipo JK, Ogun O, Adeleye J, Irabor D: Pheochromocytoma in an accessory adrenal gland: a case report, *Cases J*. 2009, 2: 6271.
- Ahmadian MR, Wiesmüller L, Lautwein A, Bischoff FR, Wittinghofer A: Structural differences in the minimal catalytic domains of the GTPase-activating proteins p120GAP and Neurofibromin, *J Biol Chem*. 1996, 271: 16409-16415.
- Ainsworth PJ, Surh LC, Coulter-Mackie MB: Diagnostic single strand conformational polymorphism, (SSCP): A simplified non-radioisotopic method as applied to a Tay-Sachs B1 variant, *Nucleic Acids Res*. 1991, 19: 405-406.
- Amar L, Bertherat J, Baudin E, Ajzenberg C, Bressac-de Paillerets B, Chabre O, Chamontin B, Delemer B, Giraud S, Murat A, Niccoli-Sire P, Richard S, Rohmer V, Sadoul JL, Strompf L, Schlumberger M, Bertagna X, Plouin PF, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP: Genetic testing in pheochromocytoma or functional paraganglioma, *J Clin Oncol*. 2005, 23: 8812-8818.
- American Thyroid Association Guidelines Task Force, Kloos RT, Eng C, Evans DB, Francis GL, Gagel RF, Gharib H, Moley JF, Pacini F, Ringel MD, Schlumberger M, Wells SA Jr: Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association, *Thyroid*. 2009, 19: 565-612.
- Arcos CT, Luque VR, Luque JA, García PM, Jiménez AB, Muñoz MM: Malignant giant pheochromocytoma: a case report and review of the literature, *Can Urol Assoc J*. 2009, 3: 89-91.
- Arnold A: RET mutation screening in sporadic pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab*. 1996, 81: 430.
- Asai N, Iwashita T, Matsuyama M, Takahashi M: Mechanism of activation of the ret proto-oncogene by multiple endocrine neoplasia 2A mutations, *Mol Cell Biol*. 1995, 15: 1613-1619.
- Astuti D, Douglas F, Lennard TW, Aligianis IA, Woodward ER, Evans GR, Eng C, Latif F, Maher ER: Germline SDHD mutation in familial pheochromocytoma, *Lancet*. 2001; 357: 1181-1182.
- Astuti D, Latif F, Dallol A, Dahia PL, Douglas F, George E, Skölberg F, Husebye ES, Eng C, Maher ER: Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit B cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma, *Am J Hum Genet*. 2001; 69: 49-54.
- Averbuch SD, Steakley CS, Young RC, Gelmann EP, Goldstein DS, Stull R, Keiser HR: Malignant pheochromocytoma: effective treatment with a combination of cyclophosphamide, vincristine, and dacarbazine, *Ann Intern Med*. 1988, 109: 267-273.
- Baghai M, Thompson GB, Young WF Jr, Grant CS, Michels VV, van Heerden JA: Pheochromocytomas and paragangliomas in von Hippel-Lindau disease: a role for laparoscopic and cortical-sparing surgery, *Arch Surg*. 2002, 137: 682-688.

- Baguet JP, Hammer L, Mazzucco TL, Chabre O, Mallion JM, Sturm N, Chaffanjon P: Circumstances of discovery of pheochromocytoma: a retrospective study of 41 consecutive patients, *Eur J Endocrinol.* 2004, 150: 681-686.
- Baid SK, Lai EW, Wesley RA, Ling A, Timmers HJ, Adams KT, Kozupa A, Pacak K: Brief communication: radiographic contrast infusion and catecholamine release in patients with pheochromocytoma, *Ann Intern Med.* 2009, 150: 27-32.
- Baloh RH, Enomoto H, Johnson EM Jr, Milbrandt J: The GDNF family ligands and receptors - implications for neural development, *Curr Opin Neurobiol.* 2000, 10: 103-110.
- Bar M, Friedman E, Jakobovitz O, Leibowitz G, Lerer I, Abeliovich D, Gross DJ: Sporadic pheochromocytomas are rarely associated with germline mutations in the von Hippel-Lindau and RET genes, *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997, 47: 707-712.
- Barnes L, Taylor SR: Carotid body paragangliomas. A clinicopathologic and DNA analysis of 13 tumors, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1990, 116: 447-453.
- Barry RE, Krek W: The von Hippel-Lindau tumour suppressor: a multi-faceted inhibitor of tumorigenesis, *Trends Mol Med.* 2004, 10: 466-472.
- Bartsch DK, Hasse C, Schug C, Barth P, Rothmund M, Höppner W: A RET double mutation in the germline of a kindred with FMTC, *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2000, 108: 128-132.
- Bauer AL, Paulding WR, Striet JB, Schnell PO, Czyzyk-Krzeska MF: Endogenous von Hippel-Lindau tumor suppressor protein regulates catecholaminergic phenotype in PC12 cells, *Cancer Res.* 2002, 62: 1682-1687.
- Bausch B, Boedeker CC, Berlis A, Brink I, Cybulla M, Walz MK, Januszewicz A, Letizia C, Opocher G, Eng C, Neumann HP: Genetic and clinical investigation of pheochromocytoma: a 22-year experience, from Freiburg, Germany to international effort, *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1073: 122-137.
- Bausch B, Borozdin W, Mautner VF, Hoffmann MM, Boehm D, Robledo M, Cascon A, Harenberg T, Schiavi F, Pawlu C, Peczkowska M, Letizia C, Calvieri S, Arnaldi G, Klingenberg-Noftz RD, Reisch N, Fassina A, Brunaud L, Walter MA, Mannelli M, MacGregor G, Palazzo FF, Barontini M, Walz MK, Kremens B, Brabant G, Pfäffle R, Koschker AC, Lohofner F, Mohaupt M, Gimm O, Jarzab B, McWhinney SR, Opocher G, Januszewicz A, Kohlhase J, Eng C, Neumann HP, European-American Pheochromocytoma Registry Study Group: Germline NF1 mutational spectra and loss-of-heterozygosity analyses in patients with pheochromocytoma and neurofibromatosis type 1, *J Clin Endocrinol Metab.* 2007, 92: 2784-2792.
- Bayley JP, Kunst HP, Cascon A, Sampietro ML, Gaal J, Korpershoek E, Hinojar-Gutierrez A, Timmers HJ, Hoefsloot LH, Hermesen MA, Suárez C, Hussain AK, Vriends AH, Hes FJ, Jansen JC, Tops CM, Corssmit EP, de Krijger P, Lenders JW, Cremers CW, Devilee P, Dinjens WN, de Krijger RR, Robledo M: SDHAF2 mutations in familial and sporadic paraganglioma and pheochromocytoma, *Lancet Oncol.* 2010, 11: 366-372.

- Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard CW, Cornelisse CJ, Devilee P, Devlin B: Mutations in SDHD, a mitochondrial complexe II gene, in hereditary paraganglioma, *Science*. 2000; 287: 848-851.
- Baysal BE, Willett-Brozick JE, Lawrence EW, Drovdic CM, Savul SA, McLeod DR, Yee HA, Brackmann DE, Slattery WH 3rd, Myers EN, Ferrell RE, Rubinstein WS: Prevalence of SDHB, SDHC, and SDHD germline mutations in clinic patients with head and neck paragangliomas, *J Med Genet*. 2002, 39: 178-183.
- Baysal BE: Clinical and molecular progress in hereditary paraganglioma, *J Med Genet*. 2008, 45: 689-694.
- Baysal BE: Hereditary paraganglioma targets diverse paraganglia, *J Med Genet*. 2002, 39: 617-622.
- Bender B, Wiestler OD, von Deimling A: A device for processing large acrylamide gels, *Biotechniques*. 1994, 16: 204-206.
- Berber E, Tellioglu G, Harvey A, Mitchell J, Milas M, Siperstein A: Comparison of laparoscopic transabdominal lateral versus posterior retroperitoneal adrenalectomy, *Surgery*. 2009, 146: 621-625.
- Bollag G, McCormick F: Differential regulation of rasGAP and neurofibromatosis gene product activities, *Nature*. 1991, 351: 576-579.
- Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C, Conte-Devolx B, Falchetti A, Gheri RG, Libroia A, Lips CJ, Lombardi G, Mannelli M, Pacini F, Ponder BA, Raue F, Skogseid B, Tamburrano G, Thakker RV, Thompson NW, Tomassetti P, Tonelli F, Wells SA Jr, Marx SJ: Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2, *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86: 5658-5671.
- Brannan CI, Perkins AS, Vogel KS, Ratner N, Nordlund ML, Reid SW, Buchberg AM, Jenkins NA, Parada LF, Copeland NG: Targeted disruption of the neurofibromatosis type-1 gene leads to developmental abnormalities in heart and various neural crest-derived tissues, *Genes Dev*. 1994, 8: 1019-1029.
- Brauch H, Hoepfner W, Jähmig H, Wöhl T, Engelhardt D, Spelsberg F, Ritter MM: Sporadic pheochromocytomas are rarely associated with germline mutations in the vhl tumor suppressor gene or the ret protooncogene, *J Clin Endocrinol Metab*. 1997, 82: 4101-4104.
- Brauckhoff M, Gimm O, Brauckhoff K, Dralle H: Repeat adrenocortical-sparing adrenalectomy for recurrent hereditary Pheochromocytoma, *Surg Today*. 2004, 34: 251-255.
- Brauckhoff M, Gimm O, Hinze R, Ukkat J, Brauckhoff K, Dralle H: Papillary thyroid carcinoma in patients with RET proto-oncogene germline mutation, *Thyroid*. 2002, 12: 557-561.
- Bravo EL: Pheochromocytoma: an approach to antihypertensive management, *Ann N Y Acad Sci*. 2002, 970: 1-10.
- Breeman WA, De Jong M, Kwekkeboom DJ, Valkema R, Bakker WH, Kooij PP, Visser TJ, Krenning EP: Somatostatin receptor-mediated imaging and therapy: basic science, current knowledge, limitations and future perspectives, *Eur J Nucl Med*. 2001, 28: 1421-1429.
- Bruynzeel H, Feelders RA, Groenland TH, van den Meiracker AH, van Eijck CH, Lange JF, de Herder WW, Kazemier G: Risk Factors for Hemodynamic Instability during Surgery for Pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab*. 2010, 95: 678-685.

- Budowle B, Chakraborty R, Giusti AM, Eisenberg AJ, Allen RC: Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE, *Am J Hum Genet.* 1991, 48: 137-144.
- Burnichon N, Brière JJ, Libé R, Vescovo L, Rivière J, Tissier F, Jouanno E, Jeunemaitre X, Bénit P, Tzagoloff A, Rustin P, Bertherat J, Favier J, Gimenez-Roqueplo AP: SDHA is a tumor suppressor gene causing paraganglioma, *Hum Mol Genet.* 2010, 19: 3011-3020.
- Burnichon N, Lepoutre-Lussey C, Laffaire J, Gadessaud N, Molinié V, Hernigou A, Plouin PF, Jeunemaitre X, Favier J, Gimenez-Roqueplo AP: A novel TMEM127 mutation in a patient with familial bilateral pheochromocytoma, *Eur J Endocrinol.* 2011, 164: 141-145.
- Castellano M, Mori L, Giacchè M, Agliozzo E, Tosini R, Panarotto A, Cappelli C, Mulatero P, Cumetti D, Veglio F, Agabiti-Rosei E: Genetic mutation screening in an italian cohort of nonsyndromic pheochromocytoma/paraganglioma patients, *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1073: 156-165.
- Clifford SC, Cockman ME, Smallwood AC, Mole DR, Woodward ER, Maxwell PH, Ratcliffe PJ, Maher ER: Contrasting effects on HIF-1alpha regulation by disease-causing pVHL mutations correlate with patterns of tumorigenesis in von Hippel-Lindau disease, *Hum mol genet.* 2001, 10: 1029-1038.
- Colman SD, Williams CA, Wallace MR: Benign neurofibromas in type 1 neurofibromatosis (NF1) show somatic deletions of the NF1 gene, *Nat Genet.* 1995, 11: 90-92.
- Cotesta D, Caliumi C, Alo P, Petramala L, Reale MG, Masciangelo R, Signore A, Cianci R, D'Erasma E, Letizia C: High plasma level of human chromogranin A and adrenomedullin in patients with pheochromocytoma, *Tumori.* 2005, 91: 53-58.
- De Paulsen N, Brychzy A, Fournier MC, Klausner RD, Gnarr JR, Pause A, Lee S: Role of transforming growth factor-alpha in von Hippel-Lindau (VHL)(-/-) clear cell renal carcinoma cell proliferation: a possible mechanism coupling VHL tumor suppressor inactivation and tumorigenesis, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001, 98: 1387-1392.
- Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima K, Lairmore TC, Howe JR, Moley JF, Goodfellow P, Wells SA Jr: Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC, *Hum Mol Genet.* 1993, 2: 851-856.
- Donovan DT, Levy ML, Furst EJ, Alford BR, Wheeler T, Tschen JA, Gagel RF: Familial cutaneous lichen amyloidosis in association with multiple endocrine neoplasia type 2A: a new variant, *Henry Ford Hosp Med J.* 1989; 37: 147-150.
- Drasin H: Treatment of malignant Pheochromocytoma, *West J Med.* 1978, 128: 106-111.
- Durbec P, Marcos-Gutierrez CV, Kilkenny C, Grigoriou M, Wartiovaara K, Suvanto P, Smith D, Ponder B, Costantini F, Saarma M, Sariola H, Pachnis V: GDNF signalling through the Ret receptor tyrosine kinase, *Nature.* 1996, 381: 789-793.
- Edstrom Elder E, Hjelm Skog AL, Hoog A, Hamberger B: The management of benign and malignant pheochromocytoma and abdominal paraganglioma, *Eur J Surg Oncol.* 2003, 29: 278-283.
- Eisenhofer G, Bornstein SR, Brouwers FM, Cheung NK, Dahia PL, de Krijger RR, Giordano TJ, Greene LA, Goldstein DS, Lehnert H, Manger WM, Maris JM, Neumann HP, Pacak K, Shulkin BL, Smith DI,

- Tischler AS, Young WF Jr: Malignant pheochromocytoma: current status and initiatives for future progress, *Endocr Relat Cancer*. 2004, 11: 423-436.
- Eisenhofer G, Goldstein DS, Walther MM, Friberg P, Lenders JW, Keiser HR, Pacak: Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: how to distinguish true- from false- positive test results, *J Clin Endocrinol Metab*. 2003, 88: 2656-2666.
- Eisenhofer G, Walther MM, Huynh TT, Li ST, Bornstein SR, Vortmeyer A, Mannelli M, Goldstein DS, Linehan WM, Lenders JW, Pacak K: Pheochromocytomas in von Hippel-Lindau syndrome and multiple endocrine neoplasia type 2 display distinct biochemical and clinical phenotypes, *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86: 1999-2008.
- Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF, van Amstel HK, Lips CJ, Nishisho I, Takai SI, Marsh DJ, Robinson BG, Frank-Raue K, Raue F, Xue F, Noll WW, Romei C, Pacini F, Fink M, Niederle B, Zedenius J, Nordenskjöld M, Komminoth P, Hendy GN, Mulligan LM: The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis, *JAMA*. 1996, 276: 1575-1579.
- Erickson D, Kudva YC, Ebersold MJ, Thompson GB, Grant CS, van Heerden JA, Young WF Jr: Benign paragangliomas: clinical presentation and treatment outcomes in 236 patients, *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86: 5210-5216.
- Eriksson B, Oberg K: Summing up 15 years of somatostatin analog therapy in neuroendocrine tumors: future outlook, *Ann Oncol*. 1999, 10: 31-38.
- Erlic Z, Hoffmann MM, Sullivan M, Franke G, Peczkowska M, Harsch I, Schott M, Gabbert HE, Valimäki M, Preuss SF, Hasse-Lazar K, Waligorski D, Robledo M, Januszewicz A, Eng C, Neumann HP: Pathogenicity of DNA variants and double mutations in multiple endocrine neoplasia type 2 and von Hippel-Lindau syndrome, *J Clin Endocrinol Metab*. 2010, 95: 308-313.
- Erlic Z, Rybicki L, Peczkowska M, Golcher H, Kann PH, Brauckhoff M, Müssig K, Muresan M, Schäffler A, Reisch N, Schott M, Fassnacht M, Opocher G, Klose S, Fottner C, Forrer F, Plöckinger U, Petersenn S, Zabolotny D, Kollukch O, Yaremchuk S, Januszewicz A, Walz MK, Eng C, Neumann HP; European-American Pheochromocytoma Study Group: Clinical predictors and algorithm for the genetic diagnosis of pheochromocytoma patients, *Clin Cancer Res*. 2009, 15: 6378-6385.
- Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, Laloo F: Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service, *Am J Med Genet A*. 2010, 152: 327-332.
- Farr HW: Carotid body tumors. A thirty year experience at Memorial Hospital, *Am J Surg*. 1967, 114: 614-619.
- Feldkamp MM, Gutmann DH, Guha A: Neurofibromatosis type 1: piecing the puzzle together, *Can J Neurol Sci*. 1998, 25: 181-191.
- Fitzgerald PA, Goldsby RE, Huberty JP, Price DC, Hawkins RA, Veatch JJ, Dela Cruz F, Jahan TM, Linker CA, Damon L, Matthay KK: Malignant pheochromocytomas and paragangliomas: a phase II study of

- therapy with high-dose ¹³¹I-metaiodobenzylguanidine (¹³¹I-MIBG), *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1073: 465-490.
- Forman BH, Marban E, Kayne RD, Passarelli NM, Bobrow SN, Livolsi VA, Merino M, Minor M, Farber LR: Ectopic ACTH syndrome due to pheochromocytoma: case report and review of the literature, *Yale J Biol Med.* 1979, 52: 181-189.
- Forrer F, Riedweg I, Maecke HR, Mueller-Brand J: Radiolabeled DOTATOC in patients with advanced paraganglioma and Pheochromocytoma, *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2008, 52: 334-340.
- Fränkel F: Ein Fall von doppelseitigem, völlig latent verlaufenen Nebennierentumor und gleichzeitiger Nephritis mit Veränderungen am Circulationsapparat und Retinitis, *Arch Pathol Anat Physiol Klin Med.* 1866, 103: 244-263.
- Frank-Raue K, Höppner W, Frilling A, Kotzerke J, Dralle H, Haase R, Mann K, Seif F, Kirchner R, Rendl J, Deckart HF, Ritter MM, Hampel R, Klempa J, Scholz GH, Raue F: Mutations of the ret protooncogene in German multiple endocrine neoplasia families: relation between genotype and phenotype. German Medullary Thyroid Carcinoma Study Group, *J Clin Endocrinol Metab.* 1996, 81: 1780-1783.
- Frank-Raue K, Rondot S, Schulze E, Raue F: Change in the spectrum of RET mutations diagnosed between 1994 and 2006, *Clin Lab.* 2007, 53: 273-282.
- Frank-Raue K, Rybicki LA, Erlic Z, Schweizer H, Winter A, Milos I, Toledo SP, Toledo RA, Tavares MR, Alevizaki M, Mian C, Siggelkow H, Hüfner M, Wohllk N, Opocher G, Dvořáková S, Bendlova B, Czetwertynska M, Skasko E, Barontini M, Sanso G, Vorländer C, Maia AL, Patocs A, Links TP, de Groot JW, Kerstens MN, Valk GD, Miehle K, Musholt TJ, Biarnes J, Damjanovic S, Muresan M, Wüster C, Fassnacht M, Peczkowska M, Fauth C, Golcher H, Walter MA, Pichl J, Raue F, Eng C, Neumann HP; International RET Exon 10 Consortium: Risk profiles and penetrance estimations in multiple endocrine neoplasia type 2A caused by germline RET mutations located in exon 10, *Hum Mutat.* 2011, 32: 51-58.
- Fuentes C, Menéndez E, Pineda J, Martínez De Esteban JP, Anda E, Goñi MJ, Bausch B, Neumann HP: The malignant potential of a succinate dehydrogenase subunit B germline mutation, *J Endocrinol Invest.* 2006, 29: 350-352.
- Fujita A, Hyodoh H, Kawamura Y, Kanegae K, Furuse M, Kanazawa K: Use of fusion images of I-¹³¹ metaiodobenzylguanidine, SPECT and magnetic resonance studies to identify a malignant pheochromocytoma, *Clin Nucl Med.* 2000, 25: 440-442.
- Gedik GK, Hoefnagel CA, Bais E, Olmos RA: ¹³¹I-MIBG therapy in metastatic phaeochromocytoma and paraganglioma, *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2008, 35: 725-733.
- George DJ, Watermeyer GA, Levin D, Epstein D, Ross IL, Scholz BU, Setshedi M, Locketz M, Dittrich C, Shaw J, Krige JE: Composite adrenal phaeochromocytoma-ganglioneuroma causing watery diarrhoea, hypokalaemia and achlorhydria syndrome, *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010, 22: 632-634.
- Gertner ME, Kebebew E: Multiple endocrine neoplasia type 2, *Curr Treat Options Oncol.* 2004, 5: 315-325.
- Gibelin H, Bezieau S, Misso C, Bouin-Pineau MH, Maréchaud R, Kraimps JL: Germline RET V804M mutation associated with multiple endocrine neoplasia type 2A, *Br J Surg.* 2004, 91: 1458-1459.

- Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, Rieubland C, Crespin M, Nau V, Khau Van Kien P, Corvol P, Plouin PF, Jeunemaitre X, COMETE Network: Mutations in the SDHB gene are associated with extra-adrenal and/or malignant pheochromocytomas, *Cancer Res.* 2003, 63: 5615-5621.
- Gimenez-Roqueplo AP, Lehnert H, Mannelli M, Neumann H, Opocher G, Maher ER, Plouin PF, European Network for the Study of Adrenal Tumours (ENS@T) Pheochromocytoma Working Group: Pheochromocytoma, new genes and screening strategies, *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006, 65: 699-705.
- Gimm O, Armanios M, Dziema H, Neumann HP, Enc C: Somatic and occult germline mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in non-familial pheochromocytoma, *Cancer Res.* 2000; 63: 5615-5621.
- Glenner GG, Grimley PM: Tumors of the extra-adrenal paraganglioma system (including chemoreceptors). In: *Atlas of Tumor Pathology, 2nd Series, Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC* 1974, fascicle 9: 13-80.
- Glinicki P, Jeske W: Chromogranin A (CgA)-the influence of various factors in vivo and in vitro, and existing disorders on it's concentration in blood, *Endokrynol Pol.* 2010, 61: 384-387.
- Goldstein RE, O'Neill JA Jr., Holcomb GW 3rd, Morgan WM 3rd, Neblett WW 3rd, Oates JA, Brown N, Nadeau J, Smith B, Page DL, Abumrad NN, Scott HW Jr.: Clinical experience over 48 years with pheochromocytoma, *Ann Surg.* 1999, 229: 755-766
- Grossman A, Pacak K, Sawka A, Lenders JW, Harlander D, Peaston RT, Reznek R, Sisson J, Eisenhofer G: Biochemical diagnosis and localization of pheochromocytoma: can we reach a consensus? *Ann NY Acad Sci.* 2006, 1073: 332-347.
- Gujji KR, Aslam AF, Privman V, Tejani F, Vasavada B: Initial presentation of pheochromocytoma with Takotsubo cardiomyopathy: a brief review of literature, *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2010, 11: 49-52.
- Gullu S, Gursoy A, Erdogan MF, Dizbaysak S, Erdogan G, Kamel N: Multiple endocrine neoplasia type 2A/localized cutaneous lichen amyloidosis associated with malignant pheochromocytoma and ganglioneuroma, *J Endocrinol Invest.* 2005, 28: 734-737.
- Gutmann DH, Aylsworth A, Carey JC, Korf B, Marks J, Pyeritz RE, Rubenstein A, Viskochil D: The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2, *JAMA.* 1997, 278: 51-57.
- Gutmann DH, Cole JL, Stone WJ, Ponder BA, Collins FS: Loss of neurofibromin in adrenal gland tumors from patients with neurofibromatosis type I, *Genes Chromosomes Cancer.* 1994, 10: 55-58.
- Hansford JR, Mulligan LM: Multiple endocrine neoplasia type 2 and RET: from neoplasia to neurogenesis, *J Med Genet.* 2000, 37: 817-827.
- Hao HX, Khalimonchuk O, Schraders M, Dephoure N, Bayley JP, Kunst H, Devilee P, Cremers CW, Schiffman JD, Bentz BG, Gygi SP, Winge DR, Kremer H, Rutter J: SDH5, a gene required for flavination of succinate dehydrogenase, is mutated in paraganglioma, *Science.* 2009, 325: 1139-1142.
- Hayashi K, Yandell DW: How sensitive is PCR-SSCP?, *Hum Mutat.* 1993, 2: 338-346.

- Hoegerle S, Altehoefer C, Ghanem N, Koehler G, Waller CF, Scheruebl H, Moser E, Nitzsche E: Whole-body 18F dopa PET for detection of gastrointestinal carcinoid tumors, *Radiology*. 2001, 220: 373-380.
- Hoffman MA, Ohh M, Yang H, Klco JM, Ivan M, Kaelin WG Jr: Von Hippel-Lindau protein mutants linked to type 2C VHL disease preserve the ability to downregulate HIF, *Hum mol genet*. 2001, 10: 1019-1027.
- Hofstra RM, Landsvater RM, Ceccherini I, Stulp RP, Stelwagen T, Luo Y, Pasini B, Höppener JW, van Amstel HK, Romeo G, Lips CJ, Buys CH: A mutation in the RET proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma, *Nature*. 1994, 367: 375-376.
- Huang H, Abraham J, Hung E, Averbuch S, Merino M, Steinberg SM, Pacak K, Fojo T: Treatment of malignant pheochromocytoma/paraganglioma with cyclophosphamide, vincristine, and dacarbazine: recommendation from a 22-year follow-up of 18 patients, *Cancer*. 2008, 113: 2020-2028.
- Huber CG, Oefner PJ, Bonn GK: High-resolution liquid chromatography of oligonucleotides on nonporous alkylated styrene-divinylbenzene copolymers, *Anal Biochem*. 1993, 212: 351-358.
- Humphrey R, Gray D, Pautler S, Davies W: Laparoscopic compared with open adrenalectomy for resection of pheochromocytoma: a review of 47 cases, *Can J Surg*. 2008, 51: 276-280.
- Ilias I, Chen CC, Carrasquillo JA, Whatley M, Ling A, Lazurova I, Adam KT, Perera S, Pacak K: Comparison of 6-18F-fluorodopamine PET with 123I-metaiodobenzylguanidine and 111In-pentetreotide scintigraphy in localization of nonmetastatic and metastatic pheochromocytoma, *J Nucl Med*. 2008, 49: 1613-1619.
- Ilias I, Pacak K: Current approaches and recommended algorithm for the diagnostic localisation of pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab*. 2004, 89: 479-491.
- Ilias I, Pacak K: Diagnosis, localization and treatment of pheochromocytoma in MEN 2 syndrome, *Endocr Regul*. 2009, 43: 89-93.
- Januszewicz W, Wocial B: Clinical and biochemical aspects of pheochromocytoma. Report of 110 cases, *Cardiology*. 1985, 72: 131-136.
- Jimenez C, Cabanillas ME, Santarpia L, Jonasch E, Kyle KL, Lano EA, Matin SF, Nunez RF, Perrier ND, Phan A, Rich TA, Shah B, Williams MD, Waguespack SG: Use of the tyrosine kinase inhibitor sunitinib in a patient with von Hippel-Lindau disease: targeting angiogenic factors in pheochromocytoma and other von Hippel-Lindau disease-related tumors, *J Clin Endocrinol Metab*. 2009, 94: 386-391.
- Jimenez C, Dang GT, Schultz PN, El-Naggar A, Shapiro S, Barnes EA, Evans DB, Vassilopoulou-Sellin R, Gagel RF, Cote GJ, Hoff AO: A novel point mutation of the RET protooncogene involving the second intracellular tyrosine kinase domain in a family with medullary thyroid carcinoma, *J Clin Endocrinol Metab*. 2004, 89: 3521-3526.
- John H, Ziegler WH, Hauri D, Jaeger P: Pheochromocytomas: can malignant potential be predicted? *Urology*. 1999, 53: 679-683.
- Joshua AM, Ezzat S, Asa SL, Evans A, Broom R, Freeman M, Knox JJ: Rationale and evidence for sunitinib in the treatment of malignant paraganglioma/Pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab*. 2009, 94: 5-9.

- Kaelin WG Jr: Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome, *Nat Rev Cancer*. 2002, 2: 673-682.
- Kalady MF, McKinlay R, Olson JA Jr, Pinheiro J, Lagoo S, Park A, Eubanks WS: Laparoscopic adrenalectomy for pheochromocytoma. A comparison to aldosteronoma and incidentaloma, *Surg Endosc*. 2004, 18: 621-625.
- Kann PH, Meyer S, Zielke A, Langer P, Ivan D: The new role for endoscopic ultrasound in endocrinology: imaging of the adrenals and the endocrine pancreas, *Dtsch Med Wochenschr*. 2006, 131: 567-572.
- Kann PH, Wirkus B, Behr T, Klose KJ, Meyer S: Endosonographic imaging of benign and malignant pheochromocytomas, *J Clin Endocrinol Metab*. 2004, 89: 1694-1697.
- Kassim TA, Clarke DD, Mai VQ, Clyde PW, Mohamed Shakir KM: Catecholamine-induced cardiomyopathy, *Endocr Pract*. 2008, 14: 1137-1149.
- Katai M, Sakurai A, Ichikawa K, Yamagata M, Ogiso Y, Kobayasi S, Hashizume K: Pheochromocytoma arising from an accessory adrenal gland in patient with multiple endocrine neoplasia type 2a: transient development of clinical manifestations after hemorrhagic necrosis, *Endocr J*. 1998, 45: 329-334.
- Ke SH, Wartell RM: Influence of nearest neighbor sequence on the stability of base pair mismatches in long DNA; determination by temperature-gradient gel electrophoresis, *Nucleic Acids Res*. 1993, 21: 5137-5143.
- Khosla S, Patel VM, Hay ID, Schaid DJ, Grant CS, van Heerden JA, Thibodeau SN: Loss of heterozygosity suggests multiple genetic alterations in pheochromocytomas and medullary thyroid carcinomas, *J Clin Invest*. 1991, 87: 1691-1699.
- Kim WY, Kaelin WG: Role of VHL gene mutation in human cancer, *J Clin Oncol*. 2004, 22: 4991-5004.
- Klöppel G: Tumors of the adrenal medulla and the paraganglia, *Pathologe*. 2003, 24: 280-286.
- Knudson AG Jr, Strong LC, Anderson DE: Heredity and cancer in man, *Prog Med Genet*. 1973, 9: 113-158.
- Kopf D, Goretzki PE, Lehnert H: Clinical management of malignant adrenal tumors, *J Cancer Res Clin Oncol*. 2001, 127: 143-155.
- Kotzbauer PT, Lampe PA, Heuckeroth RO, Golden JP, Creedon DJ, Johnson EM Jr, Milbrandt J: Neurturin, a relative of glial-cell-line-derived neurotrophic factor, *Nature*. 1996, 384: 467-470.
- Kroll SL, Paulding WR, Schnell PO, Barton MC, Conaway JW, Conaway RC, Czyzyk-Krzeska MF: Von Hippel-Lindau protein induces hypoxia-regulated arrest of tyrosine hydroxylase transcript elongation in pheochromocytoma cells, *J Biol Chem*. 1999, 274: 30109-30114.
- Kudva YC, Sawka AM, Young WF Jr.: Clinical review 164: The laboratory diagnosis of adrenal pheochromocytoma: the Mayo Clinic experience, *J Clin Endocrinol Metab*. 2003, 88: 4533-4539.
- Kukreja SC, Hargis GK, Rosenthal IM, Williams GA: Pheochromocytoma causing excessive parathyroid hormone production and hypercalcemia, *Ann Intern Med*. 1973, 79: 838-840.
- Lammert M, Friedman JM, Kluwe L, Mautner VF: Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrolment, *Arch Dermatol*. 2005, 141: 71-74.

- Lebuffe G, Dosseh ED, Tek G, Tytgat H, Moreno S, Tavernier B, Vallet B, Proye CA: The effect of calcium channel blockers on outcome following the surgical treatment of pheochromocytomas and paragangliomas, *Anaesthesia*. 2005, 60: 439-444.
- Ledbetter DH, Rich DC, O'Connell P, Leppert M, Carey JC: Precise localization of NF1 to 17q11.2 by balanced translocation, *Am J Hum Genet*. 1989, 44: 20-24.
- Lee JE, Curley SA, Gagel RF, Evans DB, Hickey RC: Cortical-sparing adrenalectomy for patients with bilateral Pheochromocytoma, *Surgery*. 1996, 120: 1064-1070.
- Lee SC, Chionh SB, Chong SM, Taschner PE: Hereditary paraganglioma due to the SDHD M11 mutation in a second Chinese family: a founder effect? *Laryngoscope*. 2003, 113: 1055-1058.
- Lehnert H, Mundschenk J, Hahn K: Malignant pheochromocytoma, *Front Horm Res*. 2004, 31: 155-162.
- Lehnert H: Pheochromocytoma. Pathophysiology and clinical management. Preface, *Front Horm Res*. 2004, 31: 9-10.
- Lenders JW, Eisenhofer G, Mannelli M, Pacak K: Phaeochromocytoma, *Lancet*. 2005, 366: 665-675.
- Lenders JW, Pacak K, Walther MM, Linehan WM, Mannelli M, Friberg P, Keiser HR, Goldstein DS, Eisenhofer G: Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *JAMA*. 2002, 287: 1427-1434.
- Lindskog S, Nilsson O, Jansson S, Nilsson B, Illerskog AC, Ysander L, Ahlman H, Tisell LE: Phenotypic expression of a family with multiple endocrine neoplasia type 2A due to a RET mutation at codon 618, *Br J Surg*. 2004, 91: 713-718.
- Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM, Oldfield EH: Von Hippel-Lindau disease, *Lancet*. 2003, 361: 2059-2067.
- Lynn MD, Shapiro B, Sisson JC, Beierwaltes WH, Meyers LJ, Ackerman R, Mangner TJ: Pheochromocytoma and the normal adrenal medulla: improved visualization with I-123 MIBG scintigraphy, *Radiology*. 1985, 155: 789-792.
- Machens A, Dralle H: Familial prevalence and age of RET germline mutations: implications for screening, *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008, 69: 81-87.
- Machens A, Dralle H: Genotype-phenotype based surgical concept of hereditary medullary thyroid carcinoma, *World J Surg*. 2007, 31: 957-968.
- Machens A, Ukkat J, Brauckhoff M, Gimm O, Dralle H: Advances in the management of hereditary medullary thyroid cancer, *J Intern Med*. 2005, 257: 50-59.
- Maher ER, Kaelin WG Jr: Von Hippel-Lindau disease, *Medicine (Baltimore)*. 1997, 76: 381-391.
- Maher ER, Webster AR, Richards FM, Green JS, Crossey PA, Payne SJ, Moore AT: Phenotypic expression in von Hippel-Lindau disease: correlations with germline VHL gene mutations, *J Med Genet*. 1996, 33: 328-332.
- Maher ER, Yates JR, Harries R, Benjamin C, Harris R, Moore AT, Ferguson-Smith MA: Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease, *Q J Med*. 1990, 77: 1151-1163.

- Manger WM, Eisenhofer G: Pheochromocytoma: diagnosis and management update, *Curr Hypertens Rep.* 2004, 6: 477-484.
- Manger WM, Gifford RW: Pheochromocytoma, *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2002, 4: 62-72.
- Manger WM: An overview of pheochromocytoma: history, current concepts, vagaries, and diagnostic challenges, *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1073: 1-20.
- Marcos C, Pachnis V: The effect of the ret- mutation on the normal development of the central and parasympathetic nervous systems, *Int J Dev Biol.* 1996, Suppl 1: 137S-138S.
- Mariman EC, van Beersum SE, Cremers CW, Stuycken PM, Ropers HH: Fine mapping of a putatively imprinted gene for familial non-chromaffin paragangliomas to chromosome 11q13.1: evidence for genetic heterogeneity, *Hum Genet.* 1995, 95: 56-62.
- Martin GA, Viskochil D, Bollag G, McCabe PC, Crosier WJ, Haubruck H, Conroy L, Clark R, O'Connell P, Cawthon RM, Innis MA, McCormick F: The GAP-related domain of the neurofibromatosis type 1 gene product interacts with ras p21, *Cell.* 1990, 63: 843-849.
- Martin TP, Irving RM, Maher ER: The genetics of paragangliomas: a review, *Clin Otolaryngol.* 2007, 32: 7-11.
- Martin TP: What we call them: the nomenclature of head and neck paragangliomas, *Clin Otolaryngol.* 2006, 31: 185-186.
- Menko FH, van der Luijt RB, de Valk IA, Toorians AW, Sepers JM, van Diest PJ, Lips CJ: Atypical MEN type 2B associated with two germline RET mutations on the same allele not involving codon 918, *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87: 393-397.
- Meyer S, von Mach MA, Ivan D, Schäfer S, Habbe N, Kann B, Kann PH: Color-coded duplex endoscopic ultrasound of the adrenals, *J Endocrinol Invest.* 2008, 31: 882-887.
- Mihai R, Sadler GP, Bridge H: Adrenergic blockade with phenoxybenzamine and propranolol in a cohort of 60 patients undergoing surgery for phaeochromocytoma, *Eur J Anaesthesiol.* 2008, 25: 508-510.
- Miyauchi A, Futami H, Hai N, Yokozawa T, Kuma K, Aoki N, Kosugi S, Sugano K, Yamaguchi K: Two germline missense mutations at codons 804 and 806 of the RET proto-oncogene in the same allele in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2B without codon 918 mutation, *Jpn J Cancer Res.* 1999, 90: 1-5.
- Mulligan LM, Eng C, Healey CS, Clayton D, Kwok JBJ, Gardner E, Ponder MA, Frilling A, Jackson CE, Lehnert H, Neumann HPH, Thibodeau SN, Ponder BA: Specific mutations of the RET proto-oncogene are related to disease phenotype in MEN 2A and FMTC, *Nat Genet.* 1994, 6: 70-74.
- Mulligan LM, Ponder BA: Genetic basis of endocrine disease: multiple endocrine neoplasia type 2, *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80: 1989-1995.
- Neumann HP, Bausch B, McWhinney SR, Bender BU, Gimm O, Franke G, Schipper J, Klisch J, Althoefer C, Zerres K, Januszewicz A, Eng C, Smith WM, Munk R, Manz T, Glaesker S, Apel TW, Treier M, Reineke M, Walz MK, Hoang-Vu C, Brauckhoff M, Klein-Franke A, Klose P, Schmidt H, Maier-Woelfle M, Peçzkowska M, Szmigielski C, Eng C; Freiburg-Warsaw-Columbus Pheochromocytoma

- Study Group: Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma, *N Engl J Med.* 2002, 346: 1459-1466.
- Neumann HP, Bender BU: Genotype-phenotype correlations in von Hippel-Lindau disease, *J Intern Med.* 1998, 243: 541-545.
- Neumann HP, Lips CJ, Hsia YE, Zbar B: Von Hippel-Lindau syndrome, *Brain Pathol.* 1995, 5: 181-193.
- Neumann HP, Pawlu C, Peczkowska M, Bausch B, McWhinney SR, Muresan M, Buchta M, Franke G, Klisch J, Bley TA, Hoegerle S, Boedeker CC, Opocher G, Schipper J, Januszewicz A, Eng C, European-American Paraganglioma Study Group: Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations, *JAMA.* 2004, 292: 943-951.
- Neumann HP, Reincke M, Bender BU, Elsner R, Janetschek G: Preserved adrenocortical function after laparoscopic bilateral adrenal sparing surgery for hereditary Pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab.* 1999, 84: 2608-2610.
- Neumann HP, Vortmeyer A, Schmidt D, Werner M, Erlic Z, Cascon A, Bausch B, Januszewicz A, Eng C: Evidence of MEN-2 in the original description of classic pheochromocytoma, *N Engl J Med.* 2007, 357: 1311-1315.
- Newbould EC, Ross GA, Dacie JE, Bouloux PM, Besser GM, Grossman A: The use of venous catheterization in the diagnosis and localization of bilateral phaeochromocytomas, *Clin Endocrinol (Oxf).* 1991, 35: 55-59.
- Niemann S, Mueller U, Engelhardt D, Lohse P: Autosomal dominant malignant and catecholamine-producing paraganglioma caused by a splice donor site mutation in SDHC, *Hum Genet.* 2003, 113: 92-94.
- Niemann S, Mueller U: Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3, *Nat Genet.* 2000, 26: 268-270.
- Nilsson O, Tisell LE, Jansson S, Ahlman H, Gimm O, Eng C: Adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas in a family with germline RET V804L mutation, *JAMA.* 1999, 281: 1587-1588.
- Noshiro T, Shimizu K, Watanabe T, Akama H, Shibukawa S, Miura W, Ito S, Miura Y: Changes in clinical features and long-term prognosis in patients with pheochromocytoma, *Am J Hypertens.* 2000, 13: 35-43.
- Nunes AB, Ezabella MC, Pereira AC, Krieger JE, Toledo SP: A novel Val648Ile substitution in RET protooncogene observed in a Cys634Arg multiple endocrine neoplasia type 2A kindred presenting with an adrenocorticotropin-producing pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87: 5658-5661.
- Oefner PJ, Underhill PA: Comparative DNA sequencing by denaturing high-performance liquid chromatography (DHPLC), *Am J Hum Genet.* 1995, 57: 266.
- Okamoto T, Obara T, Ito Y, Yamashita T, Kanbe M, Iihara M, Hirose K, Yamazaki K: Bilateral adrenalectomy with autotransplantation of adrenocortical tissue or unilateral adrenalectomy: treatment options for pheochromocytomas in multiple endocrine neoplasia type 2A, *Endocr J.* 1996, 43:169-175.

- Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T: Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989, 86: 2766-2770.
- Pacak K, Eisenhofer G, Ahlman H, Bornstein SR, Gimenez-Roqueplo AP, Grossman AB, Kimura N, Mannelli M, McNicol AM, Tischler AS: International Symposium on Pheochromocytoma. Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium. October 2005, *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007, 3: 92-102.
- Paris J, Facon F, Thomassin JM, Zanaret M: Cervical paragangliomas: neurovascular surgical risk and therapeutic management, *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2006, 263: 860-865.
- Pasini B, McWhinney SR, Bei T, Matyakhina L, Stergiopoulos S, Muchow M, Boikos SA, Ferrando B, Pacak K, Assie G, Baudin E, Chompret A, Ellison JW, Briere JJ, Rustin P, Gimenez-Roqueplo AP, Eng C, Carney JA, Stratakis CA: Clinical and molecular genetics of patients with the Carney-Stratakis syndrome and germline mutations of the genes coding for the succinate dehydrogenase subunits SDHB, SDHC, and SDHD, *Eur J Hum Genet*. 2008, 16: 79-88.
- Pasquali D, Rossi V, Conzo G, Pannone G, Bufo P, De Bellis A, Renzullo A, Bellastella G, Colao A, Vallone G, Bellastella A, Sinisi AA: Effects of somatostatin analog SOM230 on cell proliferation, apoptosis, and catecholamine levels in cultured pheochromocytoma cells, *J Mol Endocrinol*. 2008, 40: 263-271.
- Petri BJ, van Eijck CH, de Herder WW, Wagner A, de Krijger RR: Pheochromocytomas and sympathetic paragangliomas, *Br J Surg*. 2009, 96: 1381-1392.
- Petropoulos AE, Luetje CM, Camarata PJ, Whittaker CK, Lee G, Baysal BE: Genetic analysis in the diagnosis of familial paragangliomas, *Laryngoscope*. 2000, 110: 1225-1229.
- Pick, L: Das Ganglioma embryonale sympathicum - eine typische bösartige Geschwulstform des sympathischen Nervensystems, *Berl Klin Wochenschr*. 1912, 49: 16-22.
- Prober JM, Trainor GL, Dam RJ, Hobbs FW, Robertson CW, Zagursky RJ, Cocuzza AJ, Jensen MA, Baumeister K: A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides, *Science*. 1987, 238: 336-341.
- Pugh CW, Ratcliffe PJ: Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system, *Nat Med*. 2003, 9: 677-684.
- Puñales MK, Graf H, Gross JL, Maia AL: RET codon 634 mutations in multiple endocrine neoplasia type 2: variable clinical features and clinical outcome, *J Clin Endocrinol Metab*. 2003, 88: 2644-2649.
- Qin Y, Yao L, King EE, Buddavarapu K, Lenci RE, Chocron ES, Lechleiter JD, Sass M, Aronin N, Schiavi F, Boaretto F, Opocher G, Toledo RA, Toledo SP, Stiles C, Aguiar RC, Dahia PL: Germline mutations in TMEM127 confer susceptibility to pheochromocytoma, *Nat Genet*. 2010, 42: 229-233.
- Raue F, Frank-Raue K: Multiple endocrine neoplasia type 2: 2007 update, *Horm Res*. 2007, 68: 101-104.
- Raue F, Frank-Raue K: Update multiple endocrine neoplasia type 2, *Fam Cancer*. 2010, 9: 449-457.
- Reisch N, Peczkowska M, Januszewicz A, Neumann HP: Pheochromocytoma: presentation, diagnosis and treatment, *J Hypertens*. 2006, 24: 2331-2339.

- Ricketts C, Woodward ER, Killick P, Morris MR, Astuti D, Latif F, Maher ER: Germline SDHB mutations and familial renal cell carcinoma, *J Natl Cancer Inst.* 2008, 100: 1260-1262.
- Ricketts CJ, Forman JR, Rattenberry E, Bradshaw N, Lalloo F, Izatt L, Cole TR, Armstrong R, Kumar VK, Morrison PJ, Atkinson AB, Douglas F, Ball SG, Cook J, Srirangalingam U, Killick P, Kirby G, Aylwin S, Woodward ER, Evans DG, Hodgson SV, Murday V, Chew SL, Connell JM, Blundell TL, Macdonald F, Maher ER: Tumor risks and genotype-phenotype-proteotype analysis in 358 patients with germline mutations in SDHB and SDHD, *Hum Mutat.* 2010, 31: 41-51.
- Ritter MM, Höppner W: Multiple endocrine neoplasia, *Internist (Berl).* 1999, 40: 486-492.
- Rothberg AE, Raymond VM, Gruber SB, Sisson J: Familial medullary thyroid carcinoma associated with cutaneous lichen amyloidosis, *Thyroid.* 2009, 19: 651-655.
- Safford SD, Coleman RE, Gockerman JP, Moore J, Feldman JM, Leight GS Jr, Tyler DS, Olson JA Jr: Iodine -131 metaiodobenzylguanidine is an effective treatment for malignant pheochromocytoma and paraganglioma, *Surgery.* 2003, 134: 956-962.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N: Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia, *Science.* 1985, 230: 1350-1354.
- Salomon R, Attie T, Amiel J, Pelet A, Niaudet P, Lyonnet S: RET proto-oncogene: role in kidney development and molecular pathology, *Adv Nephrol Necker Hosp.* 1998, 28: 401-417.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977, 74: 5463-5467.
- Santoro M, Carlomagno F, Romano A, Bottaro DP, Dathan NA, Grieco M, Fusco A, Vecchio G, Matoskova B, Kraus MH, Di Fiore PP: Activation of RET as a dominant transforming gene by germline mutations of MEN2A and MEN2B, *Science.* 1995, 267: 381-383.
- Saraste M: Oxidative phosphorylation at the fin de siècle, *Science.* 1999; 283: 1488-1493.
- Sato M, Watanabe T, Ashikaga T, Taneda T, Yamawake N, Nishizaki M, Arimura A, Azegami N, Arita M, Fukuoka H, Kitamura H: Adrenocorticotrophic hormone-secreting pheochromocytoma, *Intern Med.* 1998, 37: 403-406.
- Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WF Jr.: A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines, *J Clin Endocrinol Metab.* 2003, 88: 553-558.
- Scheffler IE: Molecular genetics of succinate:quinone oxidoreductase in eukaryotes, *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 1998, 60: 267-315.
- Scherzinger CA, Bourke MT, Ladd C, Lee HC: DNA extraction from liquid blood using QIAamp, *J Forensic Sci.* 1997, 42: 893-896.
- Schmahl K, Atamna N, Schöniahn T, Lüssdorf P, Göller T, Jacob R: Uncommon case of paraganglioma syndrome in combination with malignant paraganglioma, *Laryngorhinootologie.* 2008, 87: 112-117.

- Schnell PO, Ignacak ML, Bauer AL, Striet JB, Paulding WR, Czyzyk-Krzeska MF: Regulation of tyrosine hydroxylase promoter activity by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and hypoxia-inducible transcription factors, *J Neurochem.* 2003, 85: 483-491.
- Scholz T, Eisenhofer G, Pacak K, Dralle H, Lehnert H: Clinical review: Current treatment of malignant Pheochromocytoma, *J Clin Endocrinol Metab.* 2007, 92: 1217-1225.
- Schouten JP, Mc Elgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G: Relative quantification of 40 nucleic acid sequence by multiplex ligation-dependent probe amplification, *Nucleic Acids Res.* 2002, 30: 1-13.
- Schuffenecker I, Virally-Monod M, Brohet R, Goldgar D, Conte-Devolx B, Leclerc L, Chabre O, Boneu A, Caron J, Houdent C, Modigliani E, Rohmer V, Schlumberger M, Eng C, Guillausseau PJ, Lenoir GM: Risk and penetrance of primary hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type 2A families with mutations at codon 634 of the RET proto-oncogene. Groupe D'etude des Tumeurs à Calcitonine, *J Clin Endocrinol Metab.* 1998, 83: 487-491.
- Seri M, Celli I, Betsos N, Claudiani F, Camera G, Romeo G: A Cys634Gly substitution of the RET proto-oncogene in a family with recurrence of multiple endocrine neoplasia type 2A and cutaneous lichen amyloidosis, *Clin Genet.* 1997, 51: 86-90.
- Shanberg AM, Baghdassarian R, Tansey LA, Bacon D, Greenberg P, Perley M: Pheochromocytoma with hypercalcemia: case report and review of literature, *J Urol.* 1985, 133: 258-259.
- Sheaves R, Chew SL, Grossman AB: The dangers of unopposed beta-adrenergic blockade in pheochromocytoma, *Postgrad Med J.* 1995, 71: 58-59.
- Sheffield VC, Beck JS, Kwitek AE, Sandstrom DW, Stone EM: The sensitivity of single-strand conformation polymorphism analysis for the detection of single base substitutions, *Genomics.* 1993, 16: 325-332.
- Shen MH, Harper PS, Upadhyaya M: Molecular genetics of neurofibromatosis type 1 (NF1), *J Med Genet.* 1996, 33: 2-17.
- Shen WT, Sturgeon C, Clark OH, Duh QY, Kebebew E: Should pheochromocytoma size influence surgical approach? A comparison of 90 malignant and 60 benign pheochromocytomas, *Surgery.* 2004, 136: 1129-1137.
- Shen ZJ, Chen SW, Wang S, Jin XD, Chen J, Zhu Y, Zhang RM: Predictive factors for open conversion of laparoscopic adrenalectomy: a 13-year review of 456 cases, *J Endourol.* 2007, 21: 1333-1337.
- Shifrin AL, Xenachis C, Fay A, Matulewicz TJ, Kuo YH, Vernick JJ: One hundred and seven family members with the rearranged during transfection V804M proto-oncogene mutation presenting with simultaneous medullary and papillary thyroid carcinomas, rare primary hyperparathyroidism, and no pheochromocytomas: is this a new syndrome-MEN 2C?, *Surgery.* 2009, 146: 998-1005.
- Sjoberg RJ, Simcic KJ, Kidd GS: The clonidine suppression test for pheochromocytoma. A review of its utility and pitfalls, *Arch Intern Med.* 1992, 152: 1193-1197.
- Skinner MA, Moley JA, Dilley WG, Owzar K, DeBenedetti MK, Wells SA Jr.: Prophylactic thyroidectomy in multiple endocrine neoplasia type 2A, *N Engl J Med.* 2005, 353: 1105-1113.

- Smith CD, Weber CJ, Amerson JR: Laparoscopic adrenalectomy: new gold standard, *World J Surg.* 1999, 23: 389-396.
- Soffer LJ: *Diseases of the Adrenals*, 2nd edition, Lea & Febiger, Philadelphia 1948: 16.
- Spark RF, Connolly PB, Gluckin DS, White R, Sacks B, Landsberg L: ACTH secretion from a functioning pheochromocytoma, *N Engl J Med.* 1979, 301: 416-418.
- Steinsapir J, Carr AA, Prisant LM, Bransome ED Jr.: Metyrosine and Pheochromocytoma, *Arch Intern Med.* 1997, 157: 901-906.
- Stolle C, Glenn G, Zbar B, Humphrey JS, Choyke P, Walther M, Pack S, Hurley K, Andrey C, Klausner R, Linehan WM: Improved detection of germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene, *Hum Mutat.* 1998, 12: 417-423.
- Sufan RI, Jewett MA, Ohh M: The role of von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and hypoxia in renal clear cell carcinoma, *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004, 287: F1-6.
- Tessitore A, Sinisi AA, Pasquali D, Cardone M, Vitale D, Bellastella A, Colantuoni V: A novel case of multiple endocrine neoplasia type 2A associated with two de novo mutations of the RET protooncogene, *J Clin Endocrinol Metab.* 1999, 84: 3522-3527.
- Theos A, Korf BR, American College of Physicians, American Physiological Society: Pathophysiology of neurofibromatosis type 1, *Ann Intern Med.* 2006, 144: 842-849.
- Toledo RA, Wagner SM, Coutinho FL, Lourenço DM Jr, Azevedo JA, Longuini VC, Reis MT, Siqueira SA, Lucon AM, Tavares MR, Fragoso MC, Pereira AA, Dahia PL, Mulligan LM, Toledo SP: High penetrance of pheochromocytoma associated with the novel C634Y/Y791F double germline mutation in the RET protooncogene, *J Clin Endocrinol Metab.* 2010, 95: 1318-1327.
- Treanor JJ, Goodman L, de Sauvage F, Stone DM, Poulsen KT, Beck CD, Gray C, Armanini MP, Pollock RA, Hefti F, Phillips HS, Goddard A, Moore MW, Buj-Bello A, Davies AM, Asai N, Takahashi M, Vandlen R, Henderson CE, Rosenthal A: Characterization of a multicomponent receptor for GDNF, *Nature.* 1996, 382: 80-83.
- Trump DL, Livingston JN, Baylin SB: Watery diarrhea syndrome in an adult with ganglioneuroma-pheochromocytoma: identification of vasoactive intestinal peptide, calcitonin, and catecholamines and assessment of their biologic activity, *Cancer.* 1977, 40: 1526-1532.
- Trupp M, Arenas E, Fainzilber M, Nilsson AS, Sieber BA, Grigoriou M, Kilkenny C, Salazar-Grueso E, Pachnis V, Arumäe U: Functional receptor for GDNF encoded by the c-ret proto-oncogene, *Nature.* 1996, 381: 785-789.
- Ulchaker JC, Goldfarb DA, Bravo EL, Novick AC: Successful outcomes in pheochromocytoma surgery in the modern era, *J Urol.* 1999, 161: 764-767.
- Van Braeckel P, Carlier S, Steelant PJ, Weyne L, Vanfleteren L: Perioperative management of pheochromocytoma, *Acta Anaesthesiol Belg.* 2009, 60: 55-66.
- Van der Harst E, de Herder WW, Bruining HA, Bonjer HJ, de Krijger RR, Lamberts SW, van de Meiracker AH, Boomsma F, Stijnen T, Krenning EP, Bosman FT, Kwekkeboom DJ:

- [123I]Metaiodobenzylguanidine and [111In]octreotide uptake in benign and malignant pheochromocytomas, *J Clin Endocrinol Metab.* 2001, 86: 685-693.
- Van der Mey AG, Maaswinkel-Mooy PD, Cornelisse CJ, Schmidt PH, Van de Kamp J: Genomic Imprinting in hereditary glomus tumours: evidence for new genetic theory, *Lancet.* 1989, 2: 1291-1294.
- Van Essen M, Krenning EP, Kooij PP, Bakker WH, Feelders RA, de Herder WW, Wolbers JG, Kwekkeboom DJ: Effects of therapy with [177Lu-DOTA0, Tyr3]octreotate in patients with paraganglioma, meningioma, small cell lung carcinoma, and melanoma, *J Nucl Med.* 2006, 47: 1599-1606.
- Vargas HI, Kavoussi LR, Bartlett DL, Wagner JR, Venzon DJ, Fraker DL, Alexander HR, Linehan WM, Walther MM: Laparoscopic adrenalectomy: a new standard of care, *Urology.* 1997, 49: 673-678.
- Viale G, Dell'Orto P, Moro E, Cozzaglio L, Coggi G: Vasoactive intestinal polypeptide-, somatostatin-, and calcitonin-producing adrenal pheochromocytoma associated with the watery diarrhea (WDHH) syndrome. First case report with immunohistochemical findings, *Cancer.* 1985, 55: 1099-1106.
- Walther MM, Herring J, Choyke PL, Linehan WM: Laparoscopic partial adrenalectomy in patients with hereditary forms of Pheochromocytoma, *J Urol.* 2000, 164: 14-17.
- Walther MM, Herring J, Enquist E, Keiser HR, Linehan WM: Von Recklinghausen's disease and pheochromocytomas, *J Urol.* 1999, 162: 1582-1586.
- Walther MM, Reiter R, Keiser HR, Choyke PL, Venzon D, Hurley K, Gnarr JR, Reynolds JC, Glenn GM, Zbar B, Linehan WM: Clinical and genetic characterization of pheochromocytoma in von Hippel-Lindau families: comparison with sporadic pheochromocytoma gives insight into natural history of pheochromocytoma, *J Urol.* 1999, 162: 659-664.
- Wängberg B, Muth A, Khorram-Manesh A, Jansson S, Nilsson O, Forssell-Aronsson E, Tisell L, Ahlman H: Malignant pheochromocytoma in a population-based study: survival and clinical results, *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1073: 512-516.
- Wells SA, Merke DP, Cutler GB Jr, Norton JA, Lacroix A: Therapeutic controversy: The role of laparoscopic surgery in adrenal disease, *J Clin Endocrinol Metab.* 1998, 83: 3041-3049.
- Werbel SS, Ober KP: Pheochromocytoma. Update on diagnosis, localisation, and management, *Med Clin North Am.* 1995, 79: 131-153.
- Whiting MJ, Doogue MP: Advances in biochemical screening for pheochromocytoma using biogenic amines, *Clin Biochem Rev.* 2009, 30: 3-17.
- Witteles RM, Kaplan EL, Roizen MF: Sensitivity of diagnostic and localisation tests for pheochromocytoma in clinical practice, *Arch Intern Med.* 2000, 160: 2521-2524.
- Yip L, Cote GJ, Shapiro SE, Ayers GD, Herzog CE, Sellin RV, Sherman SI, Gagel RF, Lee JE, Evans DB: Multiple endocrine neoplasia type 2: evaluation of the genotype-phenotype relationship, *Arch Surg.* 2003, 138: 409-416.
- Yip L, Lee JE, Shapiro SE, Waguespack SG, Sherman SI, Hoff AO, Gagel RF, Arens JF, Evans DB: Surgical management of hereditary Pheochromocytoma, *J Am Coll Surg.* 2004, 198: 525-534.

Zbar B, Kishida T, Chen F, Schmidt L, Maher ER, Richards FM, Crossey PA, Webster AR, Affara NA, Ferguson-Smith MA, Brauch H, Glavac D, Neumann HP, Tisherman S, Mulvihill JJ, Gross DJ, Shuin T, Whaley J, Seizinger B, Kley N, Olschwang S, Boisson C, Richard S, Lips CHM, Linehan WM, Lerman M: Germline mutations in the Von Hippel-Lindau disease (VHL) gene in families from North America, Europe, and Japan, *Hum Mutat.* 1996, 8: 348-357.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Geburtsdatum	10.06.1982
Geburtsort	Bukarest, Rumänien
Familienstand	ledig, keine Kinder
Staatsangehörigkeit	rumänisch
Religion	orthodoxe

SCHULAUSBILDUNG

1989 - 1993	Grundschule Nr. 56 - Bukarest, Rumänien
1993 - 2001	"George Cosbuc" zweisprachiges Lyzeum (rumänisch-englisch) - Bukarest, Rumänien
06/2001	Abitur - in Bukarest, Rumänien

MEDIZINISCHE AUSBILDUNG

09/2001	Aufnahmeprüfung bei der "Carol Davila" Universität für Medizin und Pharmazie - Bukarest, Rumänien
2001 - 2004	Medizinstudium an der "Carol Davila" Universität für Medizin und Pharmazie - Fakultät für Humanmedizin - Bukarest, Rumänien
08-09/2002	Famulatur „Floreasca“ Notfall-Klinik - Bukarest, Rumänien - Abteilung für Plastische- und Wiederherstellungschirurgie - Prof. Dr. Ioan Lascar
09-09/2003	Famulatur „Floreasca“ Notfall-Klinik - Bukarest, Rumänien - Abteilung für Plastische- und Wiederherstellungschirurgie - Prof. Dr. Ioan Lascar
07-08/2004	Famulatur Universitätsklinik für Plastische- und Wiederherstellungschirurgie - Innsbruck, Österreich - Prof. Dr. Hildegunde Piza
2004 - 2005	Stipendium des Erasmus-Programms an der Philipps-Universität Marburg, Deutschland - Fachbereich Humanmedizin
03-04/2005	Famulatur Universitätsklinik für Innere Medizin - Marburg, Deutschland - Prof. Dr. Rudolf Arnold (Gastroenterologie)
07/2005	Anerkennung von Physikum, 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und 2 klinischen Semestern
2005 - 2008	Fortsetzung des Medizinstudiums an der Philipps-Universität Marburg, Deutschland - Fachbereich Humanmedizin
03-04/2006	Famulatur Universitätsklinik für Innere Medizin - Marburg, Deutschland - Prof. Dr. Dr. Peter Herbert Kann (Endokrinologie)
07-08/2006	Famulatur Augenarzt-Praxis Dr. Jürgens Heiland, Clemens Noll, Dr. Annette Troost - Frankfurt am Main (Höchst), Deutschland
08/2007-07/2008	Praktisches Jahr an der Universitätsklinik Marburg (Wahlfach Neurologie)
11/2008	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

ÄRZTLICHE TÄTIGKEIT

Seit 01/2009

Ässistenzärztin an der Universitätsklinik Marburg, Abteilung für Innere Medizin, Bereich Endokrinologie & Diabetologie unter der Leitung von Prof. Dr. Thomas Mathias Gress und Prof. Dr. Dr. Peter Herbert Kann

PUBLIKATIONEN

2003

Galan, SR: Alone in the World? - Awareness on the risks of Smocking, Spitalul herausgegeben von LSM (Medical Students' League) der "Carol Davila" Universität, 2003, 1: 20-22

2011

Galan SR, Kann PH, Gress TM, Michl P: Listeria monocytogenes-induced bacterial peritonitis caused by contaminated cheese in a patient with haemochromatosis, Z Gastroenterol. 2011, 49: 832-835.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer in **Bukarest** waren die Damen und Herren

Atanasiu, Badaranu, Bara, Bordea, Burcos, Calistru, Draganescu, Filipoiu, Ganea, Ion, Ispas, Isvoranu, Jianu, Marcu, Lascar, Lupu, Popa, Popescu, Ruta, Sajin, Sfetea, Spircu, Stamate, Steriu Ianulle, Streinu-Cercel, Tarta-Arsene, Vintila, Voicu, Voiculescu, Zagrean

Meine akademischen Lehrer in **Marburg** waren die Damen und Herren

Arnold, Bartsch, Baum, Baumann, Beyer, Boudriot, Czubayko, Donner-Banzhoff, Ellenrieder, Fuchs-Winkelmann, Gerdes, Görg, Gress, Grzeschik, Hartleb, Herrmann-Lingen, Hertl, Höffken, Hoyer, Jungclas, Kann, Kill, Kim-Berger, Klenk, Klose, Köhler, Krieg, Kroll, Kuhlmann, Langer, Lenz, Lohoff, Maier, Maisch, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Noll, Oertel, Remschmidt, Richter, Rothmund, Ruchholtz, Schäfer, Schmidt, Schnabel, Schrader, Sommer, Stiletto, Vogelmeier, Waldmann, Wagner, Weiler, Werner, Wulf, Ziring.

Danksagung

Ich möchte mich vor allem bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. Peter H. Kann für die Überlassung des interessanten und vielversprechenden Themas, die konstruktive Betreuung und seine stets offene Tür herzlich bedanken. Er hat immer wieder geschafft, meine Interesse und Begeisterung für die Endokrinologie und besonders für die Pathologie der Nebennieren zu erwecken. Ohne seine umfangreiche Unterstützung und konstante Förderung hätte ich nie mein Ziel erreicht.

Besonders möchte ich mich bei Prof. Dr. Dr. Hartmut Neumann von der Universitätsklinik Freiburg bedanken, der mir seine molekulargenetischen Ergebnisse überlassen hat. Darüber hinaus dürfte ich einige sehr lehrreiche Wochen in seinem Labor in Freiburg verbringen. Ich bin ihm für die hilfreichen Anregungen und Unterstützung bei der Erstellung meiner Dissertation sehr dankbar. Vielen Dank auch an seinem ganzen Laborteam.

Bei Dr. Jens H. Figiel bedanke ich mich für seine Hilfe in der Auswahl der radiologischen Bilder.

Ein herzliches Dankeschön geht an meinen Freund Gabriel Munteanu für seine moralische Unterstützung, seine nahezu unerschöpfliche Geduld aber auch für die konkrete Hilfe in der Text- und Bilderbearbeitung meiner Dissertation.

Nicht zuletzt gilt ein besonderer Dank meinen Eltern Doina und Rasvan Galan für den uneingeschränkten Rückhalt, den sie mir während meiner Ausbildung und während dieser Arbeit gegeben haben. Sie waren mir immer eine Stütze und standen mir mit Rat und Tat zur Seite.

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Klinische und molekulargenetische Charakterisierung von Phäochromozytomen und Paragangliomen“ in der Klinik für Innere Medizin, Bereich Endokrinologie, unter Leitung von Prof. Dr. Dr. Peter H. Kann ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, den 18.01.2012